Beiträge zur Kenntnis

der

Vaccinekörperchen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

vorgelegt von

Karl Süpfle

Approb. Arzt, Assistent am hygien. Institut der Universität Heidelberg

Heidelberg 1905

Carl Winter's Universitätsbuchhandlung

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg.

Dekan:	Referent:
Geh. Hofrat Dr. Edler von Rosthorn.	**Geh. Hofrat Dr. Knauff.**

1905.

Inhaltsübersicht.

Seite.

Allgemeines über die ätiologische Forschung der Pocken . . . 1—2
Untersuchungsmethoden der Vaccinekörperchen . . . . . 2—3

I. Teil.

Die freien Vaccinekörperchen in Lymphe, Blut und Organen Pockenkranker und Vaccinierter . . . 4

1. Amöboide Zellformen . . . . . 5—9
2. Kleine lichtbrechende Körperchen . . . . . 10—16

II. Teil.

Die intracellulären Vaccinekörperchen im Epithel der geimpften Haut und Hornhaut 17

1. Abschnitt. Die Morphologie der intracellulären Vaccinekörperchen . . . . . 18—35
Fremde Untersuchungen . . . . . 18—27
Eigene Untersuchungen . . . . . 27—35
2. Abschnitt. Die über die Natur der intracellulären Vaccinekörperchen aufgestellten Hypothesen . . . . . 35—60
A) Die Protozoenhypothese . . . . . 35—44
B) Die Degenerationshypothesen . . . . . 44—60
I. Gründe für die Auffassung der Vaccinekörperchen als Degenerationsprodukte . . . . . 45—52

Seite.

II. Erklärungsmöglichkeiten der Vaccinekörperchen . . . . 52—57
Fremde Erklärungsversuche . . . . . 52—57
Eigener Erklärungsversuch der Abstammung der Vaccinekörperchen . . . . . 58—60

Schlußfolgerungen 61

Literaturverzeichnis . . . . . 63—67

Allgemeines über die ätiologische Forschung der Pocken.

Das Studium des Pockenerregers ist seit mehr als 30 Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Eine stattliche in- wie ausländische Literatur zeugt davon, daß Forscher der ganzen gebildeten Welt bestrebt waren, zur Klärung der Frage beizutragen. Trotz der eifrigsten Studien gelang es jedoch noch nicht, über die Natur des Erregers zu einer sicheren Kenntnis zu kommen: alles, was bisher als Variola- oder Vaccineerreger beschrieben worden ist, entbehrt einwandfreier Beweise.

Man suchte den Erreger zunächst unter den Bakterien und gab bis in die jüngste Zeit die Hoffnung nicht auf, spezifische Pockenbakterien zu finden. Doch mit keinem der gezüchteten Coccen oder Stäbchen gelang es, durch Impfung von Reinkulturen bei Tieren Veränderungen hervorzurufen, welche selbst eine entfernte Ähnlichkeit mit einer Pockenpustel hätten. Andererseits wurde festgestellt (Wassermann[26]) u. a.), daß der Inhalt der Variola- und Vaccinepusteln bei Verimpfung auf die verschiedenen Nährböden sich in allen Stadien der Pustel stets als steril erwies, sobald die Experimente unter strenger Asepsis durchgeführt waren. Bakterien spielen also weder in der Ätiologie der Variola noch der Entstehung der Impfpustel irgendwelche Rolle.

Nachdem die Versuche, auf diesem Wege dem Ziele näher zu kommen, gescheitert waren, hegte man um so

größere Erwartungen von den Beschreibungen von Protozoen, die im Inhalt der Pusteln bei Variola und Vaccine vorkommen sollten. Mit dieser Entdeckung schien auf einmal die Ätiologie der Pocken klargelegt. Eine große Reihe von Autoren hielt die parasitäre Natur der beobachteten Gebilde bereits für erwiesen. Andere aber lehnten diese Deutung der «Vaccinekörperchen» ab. Doch immer wieder kamen Mitteilungen von Protozoen als Variola- und Vaccineerreger, so daß aufs neue die Frage nach der Bedeutung der Vaccinekörperchen entsteht.

Es soll daher im folgenden versucht werden, eine kritische Darstellung der hierher gehörigen Literatur zu geben, um so an Hand eigener Untersuchungen zu einem Urteil über den derzeitigen Stand der Vaccinekörperchen-Frage zu gelangen.

Untersuchungsmethoden der Vaccinekörperchen.

Man betrachtet eine Bakterienart dann als den Erreger einer Krankheit, wenn die drei Forderungen erfüllt sind: Konstanz des Vorkommens, Herstellung der Reinkultur, Erzeugung der betreffenden Krankheit durch Übertragung der Reinkultur. Mit diesen drei Methoden auch den Pockenerreger nachzuweisen, war das Ziel mehrerer Forscher. Was bei dem Suchen nach einem spezifischen Pockenbakterium nicht geglückt war, wurde für die erhofften Protozoen angestrebt: Reinzüchtung des Erregers auf künstlichen Nährböden. Aber auch hier war das Resultat ein negatives. Zwar wollte Ishigami[56]) einen solchen Nährboden gefunden haben, der zum größten Teil aus Epithelzellen noch nicht geimpfter Tiere bestehe; in dem Ausbleiben der Bestätigung aber wird man eine stillschweigende Zurücknahme erblicken dürfen.

Calmette und Guérin[50]) versuchten, die virulenten Elemente der Vaccine sowohl auf künstlichen Nährböden, als auch in vivo im peritonealen Exsudate mittels Kollodiumsäckchen zu kultivieren, aber ohne jeden Erfolg. Bedeutungsvoll sind vor allem die jahrelangen, ebenso gründlichen wie kritischen Untersuchungen von Bonhoff[59]), die das Ergebnis haben, daß unter allen Umständen auf eine Züchtung des Vaccineerregers auf den bis jetzt versuchten künstlichen Nährböden verzichtet werden muß.

Mit dieser Erkenntnis sind die Untersuchungsmöglichkeiten vorläufig beschränkt und das exakte Studium des Erregers in hohem Grade erschwert. Es bleibt nichts anderes übrig, als in den Krankheitsherden und -produkten selbst nach dem Erreger zu suchen: die Untersuchungsmethode muß eine histologische sein. Analog den histologischen Methoden überhaupt sehen wir auch beim Studium des gesuchten Vaccineerregers schon seit Beginn die Forscher vorwiegend zwei Wege einschlagen:

1. Beobachtung frischer Präparate, Pustelinhalt, Blut und Organsaft im hängenden Tropfen oder Ausstrich.
2. Untersuchung in Schnitten nach vorausgegangener Fixierung und Härtung.

Wenn auch diese beiden Methoden die gegenseitige Ergänzung bilden, so haben doch die Forscher, welche je nach Umständen und Gelegenheit Variola- oder Vaccinematerial untersuchten, in der Mehrzahl nur die eine oder nur die andere Untersuchungsart angewandt, teils aus Prinzip, teils aus Ungunst der Verhältnisse. Es werden sich daher die Ergebnisse der verschiedenen Autoren besser vergleichen lassen, wenn man die Beobachtungen nach diesen beiden Untersuchungsmethoden getrennt bespricht.

I. Teil.

Die freien Vaccinekörperchen in Lymphe, Blut und Organen Pockenkranker und Vaccinierter.

Eine Reihe von Forschern suchte den Erreger in Vaccinelymphe, im Inhalt von Vaccinepusteln von Tieren und Menschen, sowie im Blut, Eiter und Pustelinhalt Variolakranker. Maßgebend war dabei der Gedanke, am zweckmäßigsten jene Krankheitsprodukte zu durchforschen, welche seit jeher als Sitz und Träger des Kontagiums bekannt sind. Manche gaben dieser Methode vor der Untersuchung in Schnittpräparaten unbedingt den Vorzug, indem sie behaupteten, es sei in Pustelschnitten unmöglich, den Krankheitserreger zu sehen, ohne ihn völlig umzugestalten: die Pustelschnitte könnten keinerlei Aufschluß geben und nicht einmal ein Urteil über die Lage des Zellschmarotzers gestatten (Funck[51]).

Die Beobachtung des verwendeten Materials geschah größtenteils im hängenden Tropfen, oft unter Benutzung eines heizbaren Objekttisches; andere fertigten Ausstrichpräparate an, die entweder wie gewöhnliche Bakterienausstriche getrocknet und fixiert wurden, oder ohne vorherige Eintrocknung eine Fixation durch Sublimat, Flemmingsche Lösung und dergleichen erfuhren.

Die Resultate solcher Untersuchungen waren verschiedenartig. Bei der Fülle von Gebilden, die das gewählte Material

bot, ist nicht es zu verwundern, wenn nur wenige Befunde übereinstimmen. Eine Klassifizierung der Ergebnisse begegnet daher gewissen Schwierigkeiten. Doch ist es möglich, nach zwei Merkmalen die Resultate gesondert zu besprechen. Die eine Gruppe umfaßt Beschreibungen von amöboiden Zellformen, der anderen ist gemeinsam der Befund von kleinen, lichtbrechenden Körperchen.

1. Amöboide Zellformen.

Van der Loeff[3]) war im Jahre 1886 der erste, der als Virus des Pockenprozesses eigenartige «Proteiden» beschrieb. Er fand im Blut von fiebernden Variolakranken und von fiebernden geimpften Kindern und Kälbern Amöboidzellen mit Pseudopodien ausgestattet, beim Kalb im jüngsten Stadium von halber, beim Kind von Viertelblutscheibengröße. Diese Amöboidzellen führten auf dem geheizten Objekttisch deutliche selbständige Bewegungen aus. Im Gegensatz zu den Malariaparasiten sei diese Form nicht endoglobulär, sondern dem Blutkörperchen nur akkoliert oder frei im Blute schwimmend und dann mit einer durch Löfflersche Methode färbbaren Geißel versehen.

Unabhängig von diesen Beobachtungen kam L. Pfeiffer zu ganz ähnlichen Resultaten: im Jahre 1887 teilte er den Befund großer amöboider Zellen im Vaccine- und Variolabläschen mit; die Cysten dieser als Jugendform eines Parasiten gedeuteten Zellen fand er innerhalb von geschlossenen, infizierten Epithelien und benannte den Zellschmarotzer Monocystis epithelialis. Wenn auch diese Ergebnisse, die L. Pfeiffer bei seinen Untersuchungen erhielt, nach seinen eigenen sowie fremden späteren Forschungen nicht mehr in ihrer ursprünglichen Deutung aufrecht erhalten werden können, so werden doch seine ersten grundlegenden Veröffentlichungen eine dauernde Bedeutung beanspruchen.

Den Arbeiten L. Pfeiffers folgte alsbald eine Reihe ähnlicher Untersuchungsergebnisse. 1892 konstatierte Doehle[6]) im Blut und Pustelinhalt bei Pocken die Anwesenheit von eigentümlichen, z. T. mit ziemlich langer Geißel versehenen beweglichen Protoplasmakörpern, die er als parasitäre Protozoen auffaßte; eine Art der Fortpflanzung durch Sporenbildung scheine vorzukommen.

Guarnieri[13]) beobachtete 1894 in frischer Lymphe Körperchen, die aus einer weiß-opaken Masse mit blaßgelblichen Reflexen zu bestehen schienen. Auf dem Reichertschen Wärmetisch waren deutlich amöboide Bewegungen zu konstatieren; die Körperchen zeigten die verschiedensten Formen mit stumpfwinkligen Vorsprüngen, welche in wechselnden Zeiträumen ihre Form änderten und sich sehr langsam verschoben.

Ogata[28]) beschrieb 1895 in humanisierter Lymphe sowie Kälber- und Variolalymphe gewisse «Protozoen», welche der Klasse der Gregarinen, Familie der Polycystiden, speziell Clepsidriana angehören sollten.

Reed[38]) fand 1897 im Blut geimpfter Kinder, Kälber, Affen amöboide Zellen von $^1/_3$ Größe eines roten Blutkörperchens.

Musso[42]) beschäftigte sich 1898 mit Körperchen von eigenartiger Form und Färbbarkeit in der Kuhpockenlymphe; auf dem geheizten Objekttisch konnte er amöboide Bewegung erkennen; der Parasit sei unter die Sporozoen einzureihen.

Roger und Weil[46]) beschrieben 1900 als Variolaerreger leicht färbbare, kernhaltige Gebilde mit schmalem Protoplasmasaum, welche im Blut und Pustelinhalt Pockenkranker gefunden wurden.

de Korté[70]) wollte 1904 in der Lymphe und im Sekret der Pockenpustel amöboide Protozoen entdeckt haben. Die Amöbe der menschlichen Impfpustel zeige lebhafte Eigenbewegung mit Pseudopodien, die der Variola verändere zwar auch ihre Kontur, stecke aber keine Pseudopodien aus. Diese

Protozoen, die man am besten im hängenden Tropfen studiere, seien als die Erreger der Variola anzusehen.

Das Gemeinsame aller dieser Angaben ist der Befund von amöboiden Zellen. Ich selbst konnte in zahlreichen untersuchten Lymphproben solche Zellformen nicht konstatieren; doch zweifle ich nicht, daß in ganz frischem Material, wie es mir nicht zugänglich war, sich derartige Bildungen vorfinden können. Die Beobachtungen der erwähnten Autoren werden also ihre Richtigkeit haben. Die eigenartige Gestalt und die Beweglichkeit waren es bei diesen Gebilden vor allem, was die Aufmerksamkeit der Untersucher erregte. Aber auf Grund dieser beiden Eigenschaften ist man noch lange nicht berechtigt, die Zellen überhaupt nur als körperfremde, geschweige denn als krankmachende Parasiten anzusehen. Die Zellgebilde haben ja nicht einmal etwas Spezifisches für den Pockenprozeß. Doehle[6]) findet seine Protozoen noch bei Scharlach und Masern, und de Korté auch in der Varicellenpustel, ohne dadurch in der Protozoenauffassung wankend zu werden. L. Pfeiffer[29]) dagegen deutet 1896 den Befund großer amöboider Zellen im Vaccine- und Blatternbläschen nicht mehr wie früher als Parasiten, nachdem er erkannt hatte, daß die lebhaften beweglichen Formen auch bei Herpes zoster, Pemphigus, Noma, Conjunktivitis, im Keuchhustenauswurf und in noch mehr Exsudationsflüssigkeiten sich vorfinden.

Die ungezwungenste Erklärung der Zellformen ist daher die, daß es sich um Derivate von Gewebszellen des erkrankten Organismus handelt: zu einem Teil glaube ich, daß die verschiedenen Formen der Leukocyten — zumal durch ihre amöboide Bewegung — zu den Mißdeutungen Anlaß gaben; weiterhin kommen Quellungs- und die mannigfachsten Degenerationszustände von Epithelial- und Bindegewebszellen in Betracht. Auch aus den roten Blutkörperchen können die sonderbarsten Gebilde entstehen,

wenn Teile des Discoplasmas sich von dem Zelleib lösen. Sehr lehrreich sind in dieser Beziehung die Artefakte, die Bonhoff[59]) durch bestimmte Präparationsmethoden aus normalem Menschenblut darstellen konnte: An einzelnen der Erythrocyten waren feine Fortsätze von sehr verschiedener, zuweilen enormer Länge zu beobachten, wobei das Blutkörperchen selbst sehr viel kleiner geworden war; auch freie Fortsätze mit kugeligen oder eiförmigen Verdickungen fanden sich vor. Im hängenden Tropfen konnte Bonhoff sogar einigemale eine zweifellose langsam gleitende Ortsveränderung an diesen freien Fäden wahrnehmen, die durch Strömungen der Flüssigkeit nicht bedingt waren, da kleine, in nächster Nähe der Fäden liegende Gebilde, Körnchen, Schatten von Poikilocyten ihren Ort bewahrten.

Es gibt also eine ganze Anzahl von Bildungen, die verkannt werden können. Der Reichtum der untersuchten Medien an lebenden und an toten Zellen ist für die Entdecker der «Amöben» zu einer Quelle von Täuschungen geworden.

Aber nicht nur als Amöben, noch ganz anders sind diese Gebilde gedeutet worden. Van der Loeff,[62]) der 1886 Proteiden als Variolaerreger beschrieben hatte, kam 1903 zu folgenden Resultaten: Ausgehend von der Beobachtung, daß er außer den «Proteiden» noch größere «Riesenzellen» sah, die mit zahlreichen «Corpuscula» ausgefüllt waren, fand er kleine, stets in Bewegung befindliche, weiße, glänzende, mit einem schwarzen Köpfchen versehene Bläschen, sowie größere Blasen, die kleinere schwarze Punkte enthielten. Anhäufungen der Bläschen waren durch beinahe unsichtbare Fäden aneinandergeknüpft. Auf Grund dieser Beobachtungen kam van der Loeff zu der sonderbaren Ansicht, daß es sich beim Pockenvirus um ein Mycelium handle, das an den Endzweigen Sporenträger hat, die sich zu Riesenzellen (Sporangien) entwickeln, in denen die Sporen reifen und sich vermehren, bis schließlich die Riesenzelle platzt und die Sporen

frei werden. Van der Loeffs Befunde machen einen höchst unglaubwürdigen Eindruck. Fadenförmige Gebilde sind nur noch von Buttersack[7]) 1892 als Vaccineerreger angesprochen worden; aber Buttersack[27]) selbst hat 1895 seine Ansicht geändert, nachdem er ähnliche Gebilde in anderen Lymphearten beobachtet hatte. Und die Idee, das Pockenvirus sei eine Myceliumformung, ist eine so seltsame und abseits liegende, daß ihre Ablehnung keiner detaillierten Begründung bedarf.

Auf was für Abwege die Erklärungsversuche des Kontagiums führen können, zeigt die Auffassung von Tanaka,[58]) daß der Pockenerreger «homogen und strukturlos analog der Lymphe selbst» sich überall darin verbreite. Diese Vorstellung ist basiert auf folgender Spekulation: «Bei der Ausführung der Vaccination wird eine Lanzette oder Nadelspitze mit Lymphe benetzt und die letztere in die Schnittöffnungen hineingestrichen». Dieser Vorgang ist Tanakas Meinung nach «nichts anderes, als daß ein Stückchen des Pockenerregers abgerissen und in die gemachten Skarifikationen eingebracht wird». Man muß es nur bedauern, daß dieses zerschneidbare «Plasmodium» infolge seiner «Strukturlosigkeit» unsichtbar ist, sonst hätte Tanaka durch eine Abbildung gerade den Moment illustrieren können, in dem ein «Stückchen des Pockenerregers» eingeimpft wird!

Fassen wir alle diese Ergebnisse zusammen, so werden wir zu dem Schluß gedrängt, daß die Befunde von amöboiden Zellformen für eine Deutung als Variola- und Vaccineerreger keine Beweiskraft besitzen: nach unserer Auffassung handelt es sich hierbei teils um Leukocyten, teils um Degenerationsprodukte von Gewebszellen des erkrankten Organismus.

2. Kleine lichtbrechende Körperchen.

Das Vorkommen kleiner lichtbrechender Körperchen in der Vaccinelymphe ist schon lange bekannt. Bohn[2]) gibt 1875 eine gute Beschreibung von ihnen. «Die Lymphe enthält regelmäßig und in großer Menge hellglänzende, sehr scharf umrandete grünlich schimmernde Körperchen, die erheblich kleiner als rote Blutzellen sind und teils frei in der Flüssigkeit zittern, teils auf den weißen Blutkörperchen haften, oder von ihrer Substanz umschlossen werden. Essigsäure bleibt auf sie ohne Einwirkung, ebenso widerstehen sie der nachdrücklichen Behandlung mit Alkohol und Äther, und Osmiumsäure läßt sie ungefärbt. Eine mit dem Alter der Lymphe zunehmende Vermehrung oder vor sich gehende Formveränderung derselben findet nicht statt». Diese Gebilde sind von zahlreichen Forschern für belebte Organismen gehalten und als Variola- und Vaccineerreger angesprochen worden. In der ersten Zeit deutete man die Körperchen als pflanzliche Mikroorganismen; als dann durch die epochemachenden Arbeiten L. Pfeiffers das Suchen nach Protozoen inauguriert war, wurde auch alsbald ihre Protozoennatur behauptet.

Buttersack[7, 27]) beschrieb sie 1892 und 1895 als kleine, hellglänzende, rundliche Körperchen, die sich durch ihre gleichmäßige Kleinheit, Anordnung und Unfärbbarkeit von sonstigen Mikroorganismen und Detritusmassen unterscheiden; die Körperchen seien als Sporen anzusprechen.

Weber[32]) bemerkte 1896 im Blut und Pustelinhalt von Variolakranken kleine, kugelige, stark lichtbrechende, je nach der Beleuchtung grünliche oder bläuliche Körperchen, die bis zu 1,8 μ Durchmesser besitzen und mit Rotations-, manchmal auch mit Progressionsbewegungen begabt sind. Außerdem wurden mehrere Gestalten von Gebilden beobachtet, welche vom Autor für verschiedene Entwicklungsstadien

einer — von ihm Sirene genannten — Amöbe gehalten werden.

Calmette und Guérin[50]) erklärten 1901 als virulente Elemente der Vaccine äußerst kleine, lichtbrechende, bewegliche, freie Körner, welche sie in der frischen, fast bakterienfreien Lymphe fanden; in der glycerinierten Lymphe erscheinen sie größer und unbeweglich. Nach ihrer Menge könne man den Virulenzgrad der Vaccine beurteilen.

Funck[51]) beobachtete 1901 in der frischen Lymphe nicht allein die lichtbrechenden Körperchen, die er als freie Sporen ansieht, sondern auch mit Sporen gefüllte Cysten von 25 μ im Durchmesser, die bald eine deutliche Membran, bald ein himbeerartiges Aussehen hatten, sowie ovale Formen, noch größer als die Cysten. Alle diese Gebilde lassen sich nicht färben und sollen verschiedene Entwicklungsstufen eines vom Autor «Sporidium vaccinale» genannten Sporozoon sein. Den Beweis der Spezifität dieses Parasiten wollte Funck dadurch erbracht haben, daß er aus einer mit Lymphe besäten Agarplatte unter Kontrolle des Mikroskopes die Cysten mittels Platindrahtes entnahm, auf Bouillon übertrug und damit bei Kälbern einen positiven Impferfolg erzielte.

Ishigami[56]) fand 1902 rundliche oder ovale, grünlich glänzende Körperchen von 0,3—0,4 μ Durchmesser in Variola-, Vaccine- und humanisierter Lymphe, sowie in der Eruptionszeit auch im Blut und in den verschiedenen Organen der geimpften Tiere. Bei Zusatz von Anilinfarben blieben die Körperchen ungefärbt. Die Vermehrung dieser Protozoen geschehe anfänglich durch Teilung, später bilde sich eine Cyste, aus deren Inhalt zahlreiche Sporozoiten hervorgehen. Der Parasit gehöre also zu den Sporozoen.

Dombrowski[53]) beschäftigte sich 1902 eingehend mit feinen, punktförmigen Gebilden mit lebhafter Bewegung und hellem Saum, die er im Inhalt der Variolapustel wahrnahm; ursprünglich sehr klein, nehmen sie später an Größe zu und

sind dann gelblich gefärbt. Farbstoffe werden von ihnen nicht aufgenommen. Dombrowski hält die Kügelchen für die Erreger der Variola, welche sich von den von anderen Autoren beschriebenen hauptsächlich durch das Fehlen der Sporoblastenbildung unterscheiden.

Poenaru[57]) konstatierte 1902 das regelmäßige Vorkommen kugeliger Körperchen in allen untersuchten, bakteriologisch sterilen Lymphen bei Variola, Vaccine, Equine. Inaktive Lymphe enthielt diese Gebilde nicht.

Thomson und Brownee[63]) fanden 1903 bei Variola im Blute und Pustelinhalt der Kranken kleine runde, stark lichtbrechende Körper, die sich weder mit Osmiumsäure schwärzten, noch mit Farbstoffen färben ließen.

Schamberg[64]) beschrieb 1903 die «Sporozoen» in Variola- und Vaccinepusteln als runde oder ovale Körperchen von der Größe eines Coccus bis zum halben Durchmesser eines roten Blutkörperchens.

Siegel[73. 74]) unterzog 1904 und 1905 die Körperchen einem intensiven Studium. Seine Ergebnisse, die sich auf gefärbte Ausstrichpräparate von Organen geimpfter Kaninchen gründen, faßte er dahin zusammen, daß die Körperchen Parasiten seien, die systematisch als eine neue Gruppe bei den Sporozoen oder Flagellaten einzureihen wären. Die aktive Beweglichkeit der Gebilde wollte Siegel sicher festgestellt haben.

Ich habe mich in eigenen Untersuchungen von der Anwesenheit dieser sehr kleinen, stark lichtbrechenden Körperchen überzeugt, die man in der Tat in jeder Lymphe leicht wahrnehmen kann. Sie finden sich sogar so zahlreich darin, daß ihre Beobachtung erleichtert wird, wenn man eine Verdünnung der Lymphe herstellt. Man sieht dann neben vielen unregelmäßigen Gebilden, die teils mehr oder weniger veränderten Zellen entsprechen, teils als Kern- und Zelltrümmer imponieren, teils keine Struktur aufweisen, die in

Rede stehenden Körperchen. Die Eigenschaft, durch die sie sich am meisten auszeichnen und die Aufmerksamkeit des Beschauers auf sich lenken, ist ihre starke Lichtbrechung. Der Verdacht, daß es sich um Fettkörnchen handle, wird durch den negativen Ausfall der mikrochemischen Reaktionen auf Fett nicht bestätigt. Der grünliche Glanz ist eine Erscheinung der Lichtbrechung, wie sich durch verschiedene Stellung des Tubus ergibt. Bei hoher Einstellung erscheint das Körperchen als heller, weißlicher Punkt mit grüner, dunkler Umrandung; bei allmählicher Senkung des Tubus wird das ganze Gebilde hellgrün, dann gleichmäßig grün; bei tieferer Einstellung wird das Zentrum immer dunkler, während es nur von einem hellen Hof umgeben erscheint. Schließlich schlägt die dunkelgrüne Farbe in eine dunkelbraunrote um, bis endlich das Körperchen unsichtbar wird.

Die Körperchen sind teils unbeweglich, teils beweglich. Man beobachtet an solchen eine tanzende Bewegung, wobei das Körperchen bald in einer höheren, bald tieferen Schicht zu liegen kommt; manche scheinen langsam nach einer Richtung fortzuschreiten, um dann wieder zum ursprünglichen Platz zurückzukehren. Diese Bewegung kann nicht als der Ausdruck einer aktiven Tätigkeit, sondern nur als Molekularbewegung aufgefaßt werden. Auch bei längerer Beobachtung unter Benutzung eines heizbaren Objekttisches war eine andere Bewegung nicht zu erkennen. Es ist aber zu betonen, daß in der Lymphe, besonders der frischen, zahlreiche Bakterien vorhanden sind, unter denen manche Stäbchen allerdings ausgesprochene Eigenbewegung aufweisen. Ich will bei dieser Gelegenheit nicht unterlassen zu erwähnen, daß mir die bakteriologische Untersuchung einer Reihe von frischen und älteren Lymphproben öfters die Anwesenheit sporentragender Stäbchen ergeben hat, die sich als zur Subtilis- sowie zur Mesentericus-Gruppe zugehörig erwiesen; es läßt sich dieser Befund dahin verwerten, daß die licht-

brechenden Körperchen, wenigstens zu einem geringen Teil, Bakteriensporen sein können. Wenn also den kleinen lichtbrechenden Körperchen von manchen Forschern amöboide Beweglichkeit zugesprochen wird, so haben meine Untersuchungen mich nur von einer Molekularbewegung überzeugen können. Die Feststellung dieser Eigenschaft ist von Bedeutung, da eine sicher konstatierte Eigenbewegung der Körperchen in bakteriologisch steriler Lymphe natürlich ein wichtiges Argument für ihre belebte Natur wäre.

Auch sonst sind stichhaltige Beweise dafür, daß es sich bei den Körperchen um selbstständige organisierte Wesen handelt, nicht erbracht worden. Denn die erfolgreiche Impfung, die Funck[51]) mit der angeblichen Reinkultur seines «Sporidium vaccinale» erzielte, ist ebenso zu beurteilen, wie die Resultate früherer Autoren mit den von ihnen entdeckten «Pockenbakterien». Wenn man nämlich aus einer mit Lymphe besäten Agarplatte irgend eine Bakterienkolonie herausfischt, oder Zellreste oder angebliche Sporoblasten, so wird unbeabsichtigt auch wirksame Vaccine mitgenommen und mit dieser Spur Impfstoff ein positives Resultat deshalb erzielt, weil auch noch starke Verdünnungen der Lymphe wirksam sind. Daß es sich übrigens bei den beschriebenen sporengefüllten Cysten um nichts anderes als fettig degenerierte Epithelzellen handelt, ist durch Podwyssoski und Mankowski[52]) nachgewiesen worden.

In jüngster Zeit suchte Siegel[74]) die Parasitennatur der Vaccinekörperchen durch Wahl neuer Methoden zu erhärten. Ein besonderer Beweis ist ihm die angeblich gelungene Kernfärbung der «Parasiten», deren bildliche Darstellung auf «möglichst naturgetreuen» photographischen Tafeln gegeben wird. Mit dieser Kernfärbung hat es jedoch eine ganz eigene Bewandtnis: sie versagte bei Anwendung aller spezifischen Kernfarben und gelang nur mit Giemsas Eosinazur; aber auch mit dieser Farbstoffmischung war ein Gelingen nie im

voraus mit Sicherheit zu berechnen. Und doch steht Siegel nicht an, auf diese vagen Ergebnisse hin die gewagtesten Schlüsse aufzubauen! Es kann nun nicht gesagt werden, daß die beigegebenen Photogramme gerade überzeugend wirken — eher das Gegenteil. Allerdings geben — damit entschuldigt sich Siegel — Photographien subtiler Objekte oft nur eine Andeutung dessen, was im Mikroskop viel klarer gesehen wird. Solche Bilder sind aber dann für den Leser wertlos. Vor allem darf nicht vergessen werden — eine lückenlose fortschreitende Verwandlung der einen Form in die andere, wie sie Siegel nach den Ausstrichpräparaten behauptet, hat er unter dem Mikroskop nicht verfolgen können. Unter diesen Umständen hat auch die aktive Beweglichkeit der Gebilde, die Siegel sicher festgestellt haben will, nur einen sehr bedingten Wert. Solange also nicht ein auf tatsächlicher Beobachtung beruhender, sondern nur auf Kombination der gefundenen Bilder konstruierter Entwicklungskreis erbracht wird, kann der Anspruch nicht erhoben werden, die Parasitennatur der Körperchen mit Exaktheit bewiesen zu haben.

Weiter wurde zugunsten der Protozoenauffassung der Körperchen das stete Vorkommen in Lymphe und Blut Variola- und Vaccinekranker angeführt. Aber nach den vorliegenden Literaturangaben entbehren die Gebilde einer Spezifität. Weber[32]) findet die Körperchen auch bei Masern und Scharlach, Thomson und Brownee bei den Windpocken. Pfeiffer[61]) macht darauf aufmerksam, daß solche hyaline Körperchen auch bei Pemphigus, Herpes zoster und verschiedenen Ekzemen zu sehen sind. Einen besonderen Wert besitzen ferner die Untersuchungsergebnisse Bonhoffs[59]). Ihm war es gelungen, dieselben Körperchen, wie er glaubte, in einem besonderen Nährboden zur Vermehrung zu bringen. Dieser war dadurch charakterisiert, daß es sich um niemals über Körpertemperatur erwärmte Alkaliextrakte der lebenswichtigsten Organe handelte. Zahlreiche Versuche hatten

das Ergebnis, daß, wenn auch vielleicht eine sehr gute Konservierung, doch eine wirkliche dauernde Vermehrung des Kuhpockenkeimes auf dem beschriebenen Nährboden nicht stattfindet; daß der unbeimpfte Nährboden an sich bei längerem oder kürzerem Aufenthalt im Brutschrank, zuweilen aus unbekannten Gründen schon nach ganz kurzer Zeit, Körnchen verdächtiger Beschaffenheit und verschiedener Größe erzeugt, die auch ein sehr hohes Lichtbrechungsvermögen besitzen.

Halten wir alle diese Befunde zusammen, so kommen wir zu dem Schluß, daß die in der Vaccine- und Variolapustel vorkommenden lichtbrechenden Körperchen nach dem vorliegenden Tatsachenmaterial in keiner Weise als Erreger angesprochen werden können. Die Abstammung der Gebilde ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden; am richtigsten erscheint mir die Deutung Bonhoffs, der die Körperchen für Produkte der Einschmelzung von Zellen hält, die in sehr eiweißreichem Material allmählich auftreten, gleichgültig, wodurch die Einschmelzung bedingt wird.

II. Teil.

Die intracellulären Vaccinekörperchen im Epithel der geimpften Haut und Hornhaut.

Eine technisch viel feinere Methode als die Beobachtung frischer Präparate ist die Untersuchung in Schnitten. Beobachtungsfehler, die bei frischen Objekten kaum ausgeschlossen werden können, lassen sich bei gefärbten Präparaten leichter vermeiden; als spezifisch erachtete Vorgänge und Veränderungen vermögen nach Form, Färbbarkeit und Verhalten zur Umgebung scharf präzisiert zu werden. Gebilde in Schnittpräparaten von Pusteln, denen vielleicht eine Bedeutung für den Pockenprozeß zuzuschreiben war, konnten so charakterisiert werden, daß für Nachprüfungen ein fester Boden geschaffen war. In der Tat hat diese Methode — im Gegensatz zu der bunten Reihe der Untersuchungsergebnisse von Lymphe, Blut und Organen Pockenkranker — auch ein übereinstimmendes Resultat gezeitigt: die Anwesenheit eigentümlicher Zelleinschlüsse im Epithel der Variola- und Vaccinebläschen. Schon 1874 von Weigert[1]) beschrieben, sind diese Vaccinekörperchen erst dann Gegenstand eines häufigen und eingehenden Studiums geworden, als infolge der oben erwähnten Arbeiten van der Loeffs und L. Pfeiffers die ätiologische Forschung von der Idee beherrscht wurde,

der Pockenerreger sei unter den Protozoen zu suchen. In dieser Präsumtion wurde alsbald den Vaccinekörperchen die Rolle des lange gesuchten Erregers zuerteilt. Durch diese Deutung war das Interesse für die eigentümlichen Zelleinschlüsse geweckt. Zahlreiche Forscher beschäftigten sich mit ihnen und suchten entweder ihre Parasitennatur zu beweisen oder zu widerlegen. Diese zwei sich gegenüberstehenden Anschauungen sind weniger durch die angewandte Technik und durch die infolgedessen abweichenden Strukturbilder als durch eine verschiedene Auslegung derselben bedingt worden.

Daraus ergibt sich die Besprechung in zwei Abschnitten:

1. Die Morphologie der Vaccinekörperchen, wie sie sich nach der Beschreibung der verschiedenen Autoren und nach eigenen Untersuchungen darstellt.
2. Die über die Natur der Vaccinekörperchen aufgestellten Hypothesen.

---

1. Abschnitt.

Die Morphologie der intracellulären Vaccinekörperchen.

A) Fremde Untersuchungen.

(Nach den Angaben der Literatur.)

Vorbildlich für die ganze Reihe dieser Ergebnisse waren die Beobachtungen Guarnieris, die daher eine ausführlichere Wiedergabe erfordern. Das Bedeutungsvolle seiner Versuche lag darin, daß sich die Vaccinekörperchen nicht nur in der Variola- und Vaccinepustel finden lassen, sondern daß sich auch nach Impfung in die Cornea von Kaninchen in den hier befindlichen Epithelzellen die gleichen Gebilde zeigen. Guarnieri[8, 13]) untersuchte 1892 zunächst variolöse Haut und Schleimhaut. Die pathologischen Veränderungen beginnen

in der Haut in kleinen Herden des Rete Malpighii und einer Vergrößerung der Epithelzellen, deren Kern anfangs unversehrt bleibt. Dagegen treten Veränderungen im Protoplasma auf, welche in der Peripherie der Zellen ihren Anfang nehmen; zugleich bildet sich in der Umgebung des Kernes ein heller Raum, welcher bisweilen zwei Drittel der Zellen einnimmt und durchscheinend oder mit feinem Detritus angefüllt ist. Hierin fand Guarnieri neben dem nach einer Seite gedrängten Kerne stets kleine, mit Haematoxylin, Boraxkarmin, Safranin, Magentarot stark färbbare Körperchen. Diese besaßen eine wechselnde, mit abgerundeten Vorsprüngen versehene Form und schwankten in ihrer Größe zwischen dem Umfang eines Epithelzellkernes und eines Mikrococcus. Die größten Formen schienen dem Zentrum des Herdes zu entsprechen und mit dem Fortschreiten der Zellveränderung an Volumen zuzunehmen. Die gewöhnlich zu ein oder zwei, selten zu drei Exemplaren vorhandenen Körperchen blieben in einer bestimmten Entfernung vom Kern, konnten ihm jedoch in seltenen Fällen auch anliegen und schmiegten sich dann so vollkommen der Oberfläche des bläschenförmigen Kernes an, daß daraus auf ihre weiche, nachgiebige Beschaffenheit geschlossen werden konnte. Noch seltener wurden sie in eingestülpten Nischen der Kernmembran gefunden, nie jedoch innerhalb der Kernhöhle. Sie schienen aus einer homogenen, sich vom Zentrum bis zur Peripherie gleichmäßig färbenden Substanz zu bestehen. Zur Kontrolle dieser Befunde impfte Guarnieri mit Vaccinelymphe Schafe und Kaninchen in die Mamillen, sowie Schafe in die Lippenschleimhaut. Es traten stets gute Impfpusteln auf; in einzelnen Epithelzellen fanden sich Körperchen, welche denen in Variolapusteln ziemlich ähnlich waren. Die schnell auftretende Zellinfiltration in der Umgebung des Impfstiches war jedoch sehr störend und veranlaßte Guarnieri, in die lebende Kaninchenhornhaut zu impfen.

Mit einer kleinen lanzettförmigen, scharfen, sterilisierten Nadel brachte Guarnieri in der Mitte der Cornea, so oberflächlich wie möglich, einen Stich an, indem er einen möglichst kleinen Epithellappen hochhob. In diese Art von Tasche führte er nun von neuem die Nadel ein, nachdem sie mit Vaccinelymphe benetzt war. Der makroskopische Erfolg der Impfung stellte sich als eine Epithelverdickung um den Einstich dar, die, nach 24—30 Stunden erkennbar, allmählich wuchs, um vom dritten Tag an in eine unregelmäßige Geschwürsbildung überzugehen. Bei der mikroskopischen Untersuchung fand Guarnieri, daß in den Epithelrändern der Verletzung, wie in den neugebildeten isolierten Epithelien jede Zelle stark gefärbte Körperchen enthielt. Sie lagen stets in einer Höhlung des Protoplasmas nahe am Kern und erschienen wie eingerahmt von einem hellen Hof. Die kleinsten der Körperchen maßen 2—3 μ; die größten erreichten den halben Umfang eines Epithelkernes. In der Nähe des Impfstiches, wo der Prozeß am ältesten war, fanden sich die größten Formen, während sich mit zunehmender Entfernung von diesem Zentrum eine Größenabnahme beobachten ließ. Guarnieri glaubte an den Körperchen einen deutlichen, runden oder ovalen Kern festzustellen, welcher sich intensiv mit den gewöhnlichen Mitteln färbte. Das umgebende «Protoplasma» hatte recht verschiedene Formen, war rund, eiförmig oder unregelmäßig wellenförmig konturiert, «una vera e propria forma ameboide». Innerhalb der Gebilde waren häufig kleine Hohlräume nachweisbar, welche sich wie helle Bläschen in dem gefärbten Protoplasma ausnahmen. Die Körperchen teilten sich, wie Guarnieri beschreibt, mittels direkter Durchschnürung und durch eine Art Karyokinese; die Teilstücke könnten ihrerseits wieder wachsen und sich vermehren. Auch auf dem Wege der Sporulation schien eine Vermehrung nachweisbar, welche jedoch nur mit Reserve ausgesprochen wurde.

Guarnieri zweifelte nicht daran, daß die Vaccinekörperchen die viel gesuchten ursächlichen Parasiten der Vaccine und Variola sind. Eine charakteristische Eigenschaft dieses Zellschmarotzers sei, daß er nur das Protoplasma angreife, den Kern aber unberührt lasse, weshalb auch das Leben der Wirtszelle ziemlich lange erhalten bleibe. Der Parasit dringe in das Protoplasma ein und höhle sich dort eine Art Nische aus; er zernage als Bewohner dieser Höhle ihre Wand, indem er Partikelchen davon loslöse, die zur eigenen Ernährung dienten. Die Folge dieser Ernährungsfunktion sei das Wachsen der Protoplasmahöhle, die schließlich bisweilen das ganze Protoplasma einnehme. Diese nagende Tätigkeit, seine Fähigkeit, «di corrodere il Protoplasma», war für Guarnieri der Anlaß, dem Parasiten den Namen «Cytoryctes» (κύτος, ῥήγνυμι: Zellzernager) zu geben.

Guarnieris Ergebnisse sind der Ausgangspunkt zahlreicher Nachuntersuchungen geworden. Die Methode der Corneaimpfung beherrschte von nun an fast ausschließlich das Studium der Vaccine-Zelleinschlüsse. In der Tat war damit eine wesentliche Erleichterung der Untersuchung geschaffen, da das gefäßlose, besonders einfach gebaute Gewebe der Cornea günstige Chancen zur Beobachtung der sich an die Impfung anschließenden Vorgänge bietet.

Guarnieri hatte mit der Schilderung seines Cytoryctes die hauptsächlichsten Eigenschaften der Vaccinekörperchen beschrieben. Viel Neues findet man daher nur bei wenigen Autoren; meistens handelt es sich um eine Bestätigung der Guarnierischen Beobachtungen und um Mitteilung einer neuen Färbemethode.

Den von Guarnieri erhobenen Befunden schlossen sich an: 1894 L. Pfeiffer[12]), Monti[11, 14]), Ruffer und Plimmer[19]), J. Clarke[9, 21]), Piana und Galli-Valerio[17]), 1895 v. Sicherer[25]). E. Pfeiffer[24]) zog 1895 in das Bereich seiner Untersuchungen die Cornea von Kaninchen, Meerschweinchen, Ziegen und

Kälbern; bei allen diesen Tieren konnte er durch Vaccineimpfung die Körperchen erzeugen. Die von E. Pfeiffer sowie Clarke als Parasiten außerdem beschriebenen freien Gebilde im Impfstich und in Epithellücken stehen außerhalb des Rahmens der Vaccine-«Zelleinschlüsse» und bleiben daher unberücksichtigt. Es sei nur kurz bemerkt, daß es sich dabei um Leukocyten, Zellinvaginationen u. dgl. handelt, wie selbst die Anhänger der Protozoentheorie zugeben.

Ebenfalls keine erwähnenswerte Bereicherung der morphologischen Kenntnisse der Vaccinekörperchen bringen 1896 Kourloff[30]), Vedelen[31]), 1897 Solovtzoff[37]), Salmon[36]), v. Wasielewski[34]). Guarnieri[35]) kam nach weiteren Untersuchungen 1897 zu der Auffassung, daß die früher von ihm als Sporulationsformen gedeuteten angeblichen Vermehrungserscheinungen vielmehr als Degenerationsformen anzusprechen seien. Bossalino[40]), London[41]) bestätigten 1898 die Anwesenheit der Vaccinekörperchen.

Die vollständigste und geradezu erschöpfende Darstellung der Vaccinekörperchen brachte 1898 Hückel[39]) nach Untersuchungen an der geimpften Hornhaut des Kaninchens. Seine durch vorzügliche Abbildungen auf vier Doppeltafeln ausgezeichnet erläuterte Schilderung des Baues und der Form der Körperchen ist bis jetzt die umfassendste geblieben.

Hückel, der fast ausschließlich von Präparaten ausging, die mit Sublimatlösung fixiert und mit dem Biondi-Heidenhainschen Dreifarbgemisch gefärbt waren, beschrieb die verschiedenen Formen der Vaccinekörperchen in sieben Gruppen. 1. «Nackte Körperchen», an welchen weder eine Hülle oder Saumbildung noch eine umgebende Körner- oder Fädchenzone nachweisbar war, färbten sich mit den gewöhnlichen Kernfarben sehr intensiv, mit Biondi dunkelblau. Eine wahrnehmbare Struktur besaßen sie nicht, doch bemerkte man zuweilen, daß sie im Zentrum punktförmig sehr dunkel, und von da gegen den Rand zu allmählich heller abgetönt waren.

Am häufigsten erschienen sie kugelig oder eiförmig, wohl auch linsenförmig, außerdem aber auch als walzenförmige, wurstförmige, eingeschnürte, mit gleichen oder ungleichen Schnürstücken, Hantel-, Flaschen-, Sanduhr-, 8-formen einander berührende Doppelkugeln, lappige, warzige Formen, der Hefe ähnliche Gebilde mit zwei, drei und mehr Sprossen und dgl. mehr. Ihre Größe schwankte von Pünktchen, welche bei stärkster Vergrößerung eben nur wahrnehmbar waren, und Körperchen, welche 3 μ im Durchmesser erreichten. 2. «Körperchen mit zusammenhängender erythrophiler Mantelschicht», welche meist runde oder ovale Form besaßen, färbten sich im Zentrum mit Biondi blau, während die rote Hülle aus einem schmalen Saum bestand oder in so dicker Schicht die blaue Masse umlagerte, daß dieselbe violett erschien. Die Grenze zwischen der roten Randschicht, welche fast stets die blaue Mitte konzentrisch umgab, war bald scharf abgesetzt, bald sehr verschwommen. Der äußere Rand der Mantelschicht konnte glatt, bröcklig zerfallen, oder aber wie ausgefranzt, ja zerfetzt aussehen; andere Male war ihr Umriß regelmäßiger eingeschnitten. Von der Mantelschicht liefen bisweilen streifige Fetzen, zahlreiche radiäre Fäden oder eine wirkliche Brücke zum Epithelleib. 3. «Von einer Körnerzone umgebene sphärische Körperchen» bildeten die Mehrzahl aller Körperchen. Die besten Resultate wurden mit Biondi erzielt, wobei die zentrale Masse blau, die sie umgebenden Körner rot wurden. Diese konnten in einfacher Schicht unmittelbar dem Körperchen aufliegen oder etwas von ihm abrücken. Nicht selten fanden sich Körperchen mit zusammenhängendem roten Saum, welchem die Körner auf- oder eingelagert waren. 4. «Sphäroide Körperchen mit zum Cytoplasma ziehenden Fädchen» wurden nur bei starker Plasmafärbung sichtbar. Die Fädchen, welche der Zahl nach wechselten und im allgemeinen bezüglich ihrer Stärke im umgekehrten Verhältnis zur Größe des Hohlraums standen,

zogen, radiär zum Körperchen angeordnet, durch den Hohlraum hindurch zum Protoplasma der Epithelzelle, um dort zu inserieren. Die Zahl der Fadenkörperchen schwankte in verschiedenen Präparaten sehr; eine Abhängigkeit vom Impfalter ließ sich nicht feststellen. 5. «Körperchen von der Form eines Halbmondes, einer Sichel, einer Spindel u. dgl.» fanden sich nicht selten in älteren Herden. Ihre Färbung mit Biondi schwankte von hellblau bis tiefdunkel- oder violettblau; die letzteren Töne waren durch Auflagerung roter Partikelchen bedingt, ganz wie bei den dunkeln runden Körperchen. Selten waren sie ganz nackt; zum mindesten pflegten sie von ein paar erythrophilen Körnern besetzt zu sein, die meisten aber waren reich mit solchen versehen. Eine Eigentümlichkeit dieser Körperchen war, daß sie sich stets nur in nächster Nähe des Kernes fanden, entweder ihm dicht anliegend, oder, häufiger, mehr oder weniger von ihm losgelöst. 6. «Körperchen von dreieckiger, beziehungsweise pyramidenförmiger Gestalt» kamen seltener vor und fehlten manchmal ganz; ausnahmsweise stieg ihre Zahl sehr. Ihr Lieblingssitz pflegte der proximale Kernpol der Basalzellen zu sein. Den Dreiecksfiguren lagen pyramidenartige und kegelförmige Gebilde zu Grund, die durch gewisse Abrundungen ihrer Spitzen und Kanten und durch Verkürzungen in wechselnden Durchmessern sackartige, zuckerhutförmige, fingerhutähnliche Gestalt annahmen, oder wie Zipfelmützen, längere und kürzere Stäbchen aussahen. Diese Körperchen, welche bisweilen Übergänge zu halbmondförmigen und haubenförmigen Gebilden zeigten, waren stets reichlich von roten Körnern und Tröpfchen umgeben, sowie mit roten, der blauen Masse unmittelbar anhaftenden, allerfeinsten Partikelchen besetzt und erschienen je nach der Menge derselben hell-, dunkelblau oder violett. Die roten Körnchen und Partikelchen lagen der blauen Masse nur auf oder waren leicht in die Oberfläche eingesenkt. Ganz wie bei den anderen Formen

war an zahlreichen Dreiecken in den Basalzellen eine Art Netz roter, vorwiegend radiär gestellter feinkörniger Fädchen durch den Nischenraum ausgespannt. 7. «Seltenere Körperchenformen», die, unter sich wieder verschieden, in keiner der aufgestellten Gruppen untergebracht werden konnten, zeigten verhältnismäßig häufig Formen, welche den Zellkern weit umklammerten.

Erschöpfender kann wohl der Formenreichtum der Körperchen nicht geschildert werden, als dies Hückel auf Grund seiner mit minutiöser Technik ausgeführten Untersuchungen von 130 Impfstellen in 2400 Schnitten möglich war. Es ist daher nicht zu verwundern, wenn die morphologische Beschreibung des typischen Cytoryctes Guarnieris durch spätere Autoren, 1901 v. Wasielewski[48]), 1903 Anna Foà[60]), 1903 und 1904 Bosc[68]), keine wesentliche Bereicherung erfahren hat.

Alle diese Forscher stimmten mit Guarnieri darin überein, daß nur das Protoplasma der Sitz der Körperchen wäre, während der Kern selbst unverändert bleibe. Wenn die Vaccinekörperchen besonders klein waren und dicht neben oder über dem Zellkern lagen, so konnte wohl der Nachweis Schwierigkeiten bereiten, ob sie innerhalb der Kernhülle lagen oder nicht. Es wurde aber stets ausdrücklich betont, daß bei sorgfältiger Prüfung die extranucleäre Lage festzustellen war. Ein wesentlich neues Moment bringt daher die Beobachtung, daß Vaccinekörperchen auch innerhalb des Kernes vorkommen sollten. Diesen Standpunkt vertrat 1900 Gorini[45. 49. 54.]) auf Grund seines Studiums von Hornhautherden, die bereits Veränderungen darboten, aber noch cytoryctesfrei waren. An solchen Herden der präcytoryctischen Phase konnte Gorini folgende Veränderungen konstatieren: 1. Mehrfache und zusammengesetzte Epithelkerne, typische und atypische Karyokinesen, vielgestaltige Kerne, fragmentierte Kerne, mit Knospen und Einschlüssen ver-

sehene Kerne; Austreten von Chromatin aus den epithelialen Kernen. 2. Auftreten von coccusförmigen Körnchen in den epithelialen Zellen. Die erste Reihe von Veränderungen sah Gorini als Zeichen einer Hyperaktivität des Kernes an und vermutete eine Beziehung zu den Vaccinekörperchen. Die coccusförmigen Körnchen verminderten sich mit dem Auftreten der Cytoryctes nach und nach bis zum völligen Verschwinden aus den Herden. Gorini hielt zwei Annahmen für möglich, entweder, daß die Vaccinekörperchen aus den Körnchen durch eine weitere Evolution dieser herstammen, oder, daß die Cytoryctes das Produkt nucleärer Veränderungen seien, welche durch die coccusförmigen Körnchen verursacht würden. Ohne sich für eine Deutung zu entscheiden, stellte Gorini die Behauptung auf, daß, wenn es sich bei den Vaccinekörperchen um Parasiten handle, diese sich nicht darauf beschränkten, das Cytoplasma anzugreifen, sondern auch in den Kern der Epithelzellen zu dringen vermöchten.

Bosc[68]) sprach sich 1903 dahin aus, daß bei Variola, nicht aber bei Vaccine, eine allerdings seltene intranucleäre Entwicklung sowie Sporenbildung der angeblichen Parasiten der Variola stattfinde.

Councilman, Magrath und Brinckerhoff[69]) beobachteten 1904 ebenfalls Einschlüsse außer in dem Plasma der Epithelzellen auch in den Kernen. Sie fanden in Fällen von haemorrhagischer Variola zunächst im Protoplasma der Epithelzellen die Körperchen, an denen sie eine Segmentation beschrieben, die zur Bildung kleiner, runder, sporenähnlicher Gebilde führen solle. Wenn in der Periode der Segmentation die Mehrzahl der intracellulären Körperchen verschwunden war, erschienen runde oder ovale ringförmige Körperchen in dem Kern der Epithelzellen; sie wuchsen und boten dann ein ganz bestimmtes morphologisches Bild dar. Unter dem Wachstum dieser Körperchen konnte der Kern schließlich ganz verschwinden, und die Körperchen lagen dann in einer

völlig degenerierten Zelle, die bisweilen auseinanderbrach und die Körperchen in Freiheit setzte. Schließlich traten in den intranucleären Körperchen kleine, 1—1½ μ im Durchmesser betragende, kugelförmige Gebilde auf, die nur mit großen Schwierigkeiten zu sehen waren. Diese intranucleären Gebilde wurden von den Autoren als ein weiteres Entwicklungsstadium der intracellulären Körperchen angesehen. Die beschriebenen sporenartigen Gebilde sollten das eigentliche Infektionsmaterial bei der Variola vorstellen.

B) Eigene Untersuchungen.

I. Die intracellulären Vaccinekörperchen in der geimpften Cornea des Kaninchens.

Die von mir angewandte Untersuchungsmethode der Cornea-Schnitte war dieselbe, die von zahlreichen früheren Autoren angegeben und geübt wurde. Die Impfung geschah durch Ritzung der Hornhaut mittels einer mit Impfstoff beschickten Lanzette; von der Anlegung einer förmlichen Epitheltasche durch Lappenbildung, wie sie Guarnieri u. a. geübt haben, wurde abgesehen, um den dadurch eintretenden großen Epitheldefekt zu vermeiden. Nach der Tötung der Kaninchen wurde das Auge in toto enucleiert und in Sublimatkochsalzlösung fixiert. Nach Härtung in Alkohol von steigender Konzentration erfolgte Einbettung der ausgeschnittenen Stichstellen in Paraffin und Zerlegung in Serienschnitte. Es kamen Impfherde von 28 und 78 Stunden zur Beobachtung.

Da die Impfkörperchen gerade von Hornhautvaccineherden so häufig durch frühere Untersucher beschrieben wurden, deren Schilderungen ich ausführlich wiedergegeben habe, will ich mich bei der Darstellung meiner eigenen Untersuchungen über die Morphologie der Vaccinekörperchen

in der geimpften Hornhaut auf die hauptsächlichen Ergebnisse beschränken.

Die oft konstatierten Zelleinschlüsse konnte ich mit mehr oder weniger Schwierigkeit schön zur Darstellung bringen. Eine markante Hervorhebung im Kontrast zu den übrigen Zellbestandteilen ist leichter zu erreichen als eine Färbung, die alle Details der Struktur deutlich zur Anschauung bringt.

Die Körperchen färben sich mit sämtlichen Kernfarben, wenn auch nicht mit allen gleich intensiv. Die Färbung der Körperchen ist bei Anwendung des nämlichen Färbungsprozesses und in dem nämlichen Präparat fast stets eine ungleiche, bald auffallend stark, bald nur angedeutet. Man beobachtet aber dieselbe Erscheinung bei den Kernen der Epithelzellen, die auch zum Teil sich viel schwächer färben als andere in demselben Schnitte. Diese verschiedene Färbbarkeit scheint auf einer verschiedenen Dichtigkeit zu beruhen, auf einer größeren oder geringeren Imbibition mit flüssigen Bestandteilen, für deren Anwesenheit der vorhandene Entzündungsprozeß eine naheliegende Erklärung abgibt. Das von Hückel sehr gerühmte Biondische Dreifarbengemisch hat auch mir die besten Resultate gegeben. Diese Färbung ist fast die einzige, der man die Fähigkeit zutraut, Protoplasmabestandteile different vom Kern darzustellen. Eine solche Feststellung der Färbbarkeit ist bei den Vaccinekörperchen allerdings von Bedeutung für ihre Beurteilung. Bei Anwendung von Biondi färben sich die Körperchen blau wie die Kerne.

So wechselvolle und vielgestaltige Formen die Körperchen zeigen, stets ist ihre Färbbarkeit mit Kernfarbstoffen als charakteristische Eigentümlichkeit ausnahmslos zu konstatieren. Ein Teil besteht nur aus einer sich derart dem Zellkern analog färbenden Masse, während der andere Teil von einer peripherischen Randschicht umgeben wird, die sich mit Protoplasmafarben tingiert. Diese beiden

Grundtypen der Körperchen können nun die verschiedenartigsten Umrisse aufweisen. Ich kann auf Grund meiner Beobachtungen die Befunde von Hückel durchaus bestätigen und schließe mich seiner Gruppierung der Körperchenformen an. Relativ häufiger wie er begegnete ich dreieckigen und pyramidenförmigen Gebilden; die nackten Formen fand ich fast zahlreicher als die Mantelkörperchen.

Einer besonderen Beachtung unterzog ich das Lageverhältnis der Körperchen zum Kern der Epithelzelle. Als häufiges Vorkommnis erwähne ich, daß viele Körperchen in einer Delle oder Einbuchtung, ja tiefen Nische des Kernes liegen, ein Befund, den schon Guarnieri, aber nur als Rarität erhoben hat. In anderen, nicht wenigen Fällen ist die Lagerung der Körperchen zum Zellkern eine derartige, daß man in der Tat im Zweifel sein kann, ob sich das Körperchen innerhalb oder wirklich außerhalb des Kernes befindet. Mit unumstößlicher Sicherheit habe ich allerdings Körperchen innerhalb des Zellkernes nicht nachweisen können. Andere Male ist das Körperchen in der Peripherie der Zelle gelegen, aber als Regel fand ich eine ausgesprochene und unverkennbare Nachbarschaft zum Kern. Eine Hofbildung um die Körperchen fehlte bald völlig, bald war sie in ausgedehntem Maße vorhanden.

II. Die intracellulären Vaccinekörperchen in den Hautpusteln geimpfter Kälber.

Fast sämtliche Beschreibungen der Vaccinekörperchen beziehen sich auf die mit Vaccine geimpfte Cornea von Kaninchen, während Hautpusteln seltener nach dieser Richtung hin studiert worden sind. Ich habe daher eine Reihe von Vaccinepusteln von Kälbern auf das Vorkommen der Zelleinschlüsse untersucht. Das Material*) stammte von

*) Herrn Obermedizinalrat Dr. Hauser, Vorstand der Großherzoglich Badischen Impfanstalt Karlsruhe, spreche ich für die bereitwillige Überlassung des Materials meinen verbindlichsten Dank aus.

Kälbern, die zwecks Gewinnung von Lymphe in der üblichen Weise geimpft waren. Bei der Entnahme des Impfstoffes wurden die schönsten Pusteln unversehrt belassen. Sofort nach der daran angeschlossenen Schlachtung erfolgte die Ausschneidung der gewählten Pusteln, welche unverzüglich in die bereitgehaltenen Fixierungsflüssigkeiten kamen. Als solche dienten Alkohol absolutus, 10% Formollösung sowie Sublimatkochsalzlösung. Die Einbettung geschah sowohl in Celloidin wie in Paraffin. Die in Paraffin eingeschlossenen Objekte wurden in Serienschnitte zerlegt und in üblicher Weise auf Objektträger aufgeklebt.

Das Alter der Pusteln betrug ca. 5×24 Stunden nach der Impfung.

Zur Färbung wurden die verschiedensten Methoden verwandt, einfache und Doppelfärbungen; als die beste bewährte sich auch hier die Färbung mit Biondi nach Sublimatfixierung.

Das Studium der Hautpusteln bietet viel größere Schwierigkeiten als die Untersuchung von Hornhautvaccine, sowohl in technischer wie histologischer Beziehung. Es hält schwer, feinste Schnitte gleichmäßig in lückenloser Reihe anzufertigen, da die Haut eine für das Schneiden sehr unvorteilhafte Konsistenz besitzt. Vor allem komplizieren die reichliche Zellinfiltration und die weit vorgeschrittenen Entzündungs- und Quellungserscheinungen der Zellen das Bild sehr erheblich. Von diesen Degenerationserscheinungen, die nicht nur der Impfpocke eigen sind, sondern überhaupt bei Hautaffektionen auftreten, die mit Bläschenbildung einhergehen, muß natürlich abstrahiert werden. So ist die ballonierende Degeneration und die retikulierende Kolliquation streng von den Vaccinekörperchen zu trennen. Eine Verwechslung beider, die Unna[33]) 1896 für möglich hielt, ist leicht auszuschließen, wenn man sich nur an die Definition hält, die Unna[47]) selbst von diesen Degenerationsformen gegeben hat.

Man verfolgt die Erscheinungen der ballonierenden Degeneration, wie die Epithelien sich abrunden und unter Verlust der Riffelfortsätze zu einem Haufen loser «Ballons» auseinanderfallen; die Kerne sind angeschwollen, verlängert, buckelig, vielgestaltig; sie teilen sich amitotisch, sodaß zahlreiche, 2—20 und noch mehr Kerne, aufeinander gehäuft oder kettenartig verbunden, von einem entarteten Protoplasmamantel umhüllt werden. Als Zeichen der retikulierenden Kolliquation sieht man die Aufquellung und Auflösung der Zellen unter Auftreten von größeren und kleineren Vakuolen, so daß bei fortgeschrittener Degeneration der Zelleib nur noch ein unregelmäßiges netzförmiges Gefüge darstellt und als Endresultat dieses Prozesses nach Durchbruch der Zellwände die ganze Stachelschicht in ein Netzwerk verwandelt erscheint.

Diese Zelldegenerationen erschweren wohl den Nachweis der Vaccinekörperchen, aber besonders die Ränder der Pustel, an denen die Zerstörung der Zellen noch nicht vorgeschritten ist, gestatten regelmäßig ein ausreichend bequemes Studium der Einschlüsse. Indem ich zur Darstellung der Körperchen selbst übergehe, will ich sowohl die im Protoplasma sich findenden Zelleinschlüsse durch Aufstellung von einzelnen Gruppen beschreiben, als auch Veränderungen der Zellkerne schildern, die in Beziehung zu den Vaccinekörperchen gebracht worden sind.

1. Körperchen im Zellprotoplasma.

1. Nackte Körperchen. Sie finden sich in der ausgebildeten Pustel nicht in sehr großer Zahl. Von runder oder ovaler Gestalt, färben sie sich mit allen Kernfarben, mit Biondi dunkelblau; die Färbung ist entweder eine völlig gleichmäßige, oder das Zentrum besitzt einen dunklen Ton, während die Randpartie heller erscheint. Um die Körperchen befindet sich meist ein lichter Hof, der dann gewöhnlich in

den perinucleären Raum mündet; nur in einer Minderzahl von Fällen ist ein solcher ungefärbter Saum nicht vorhanden.

2. Körperchen mit Mantelschicht. Einen sehr großen Teil der zu beobachtenden Formen bilden Körperchen, die bei Doppelfärbungen eine Innenschicht und eine Randschicht unterscheiden lassen. Sie stellen sich dar als runde oder unregelmäßig begrenzte Körperchen, deren Zentrum sich mit Kernfarben, deren Peripherie sich wie Protoplasma tingiert. Biondi färbt den Innenkörper blau, die Mantelschicht rot, oft von derselben Nuance, oft deutlich dunkler wie das benachbarte Protoplasma der Epithelzelle. Die Körperchen liegen stets in einer, als Aushöhlung imponierenden, ungefärbten Zone des Protoplasmas. Ein bestimmtes Größenverhältnis zwischen Zentrum und Rand ist nicht zu konstatieren: bald umgibt ein sehr umfangreicher Mantel die viel kleinere zentrale Masse, bald ist die Randschicht mit Mühe als schmaler Saum zu erkennen. Die Lagerung des Innenkörpers ist teils zentral, teils exzentrisch. Oft scheint die rote Schicht die blaue Masse nur eierbecherartig zu umgreifen oder ihr kegelkopfförmig aufzuliegen. Bisweilen finden sich zwei blaue Zentren in einem gemeinsamen Mantel, der die beiden Zentren entweder 8-förmig umgibt oder aber eine längliche, oft mit unregelmäßigen Fortsätzen versehene Form aufweist. Zentrum und Peripherie sind meist scharf abgesetzt, seltener findet ein allmählicher Übergang statt.

3. Körperchen mit zum Cytoplasma ziehenden Fädchen. Eine ebenfalls sehr häufige Form von Körperchen befindet sich stets in einem Hohlraum des Zellprotoplasmas, mit dem die Gebilde durch feine Fädchen in Verbindung stehen. Man unterscheidet an ihnen eine zentrale blaue Masse von wechselnder Form, rund, oval, länglich, spindelförmig, dreieckig u. s. w., in seltenen Fällen auch zwei blaue Zentren, sowie eine rote Randschicht, die bald kaum wahr-

nehmbar, bald eine breite Hülle bildend, feine fadenförmige Ausläufer zum Cytoplasma schickt. Die Fädchen beginnen gewöhnlich mit zackenartigen Verdickungen am Körperchen und ziehen zum Protoplasma der Epithelzelle. Die Anordnung der Fädchen ist radiär, so daß oft die zierlichen Bilder eines Strahlenkranzes, Sternes, Rades mit vielen Speichen entstehen. Andere Male ist die Zahl der Fädchen geringer, so daß papierdrachenförmige Figuren oder ausgezogene Dreiecke, Pyramiden und Spindeln entstehen. Oder die Lagerung des Körperchens im Protoplasma-Hohlraum ist eine exzentrische, so daß die eine Seite sich der Höhle glatt anschließt, während nur von der anderen Fädchen entspringen. Die Körperchen haben dann oft die Form einer Sichel, eines Halbmondes u. dgl. Der Zellkern ist dabei entweder an normaler Stelle oder an den einen Pol gerückt, das Zellprotoplasma oft bis auf eine schmale Randzone in die Bildung des Hohlraumes aufgegangen.

4. Körperchen mit Körnerzone. Die nur selten sich vorfindenden Körperchen bestehen aus einer runden, zentralen blauen Masse, der kugelige, rote Körner bald in großer Zahl dicht anliegen, so daß das Zentrum fast verhüllt wird, bald nur vereinzelt aufgestreut scheinen.

Mit der Aufstellung dieser Gruppen sollte nicht etwa ein Schema gegeben werden, das alle Konfigurationen erschöpfend umfasse, sondern die Vielgestaltigkeit und der Formenreichtum der Körperchen zum Ausdruck gebracht werden. Aus der Fülle der verschiedenen Körperchen sind die besonders häufig wiederkehrenden Formen als Typen herausgegriffen worden, ohne damit eine Regelmäßigkeit des Baues statuieren zu wollen. Es muß vielmehr ausdrücklich hervorgehoben werden, daß alle möglichen Übergänge zwischen den beschriebenen Gestalten vorkommen, ganz wie dies Hückel bei den Vaccinekörperchen der Cornea beobachtet hat.

2. Veränderungen der Zellkerne.

Die Kerne der Epithelzellen zeigen in der Vaccinepustel beim Kalb Veränderungen, die ich nicht übergehen will, da einige Forscher Sporulationszustände der Vaccinekörperchen beschrieben, die sich nicht im Protoplasma, sondern im Kern der Zellen abspielen sollten. Kernveränderungen finden sich in jenem Bereich der Pustel, in dem auch die Cytoryctes Guarnieris ihren Sitz haben. Man beobachtet, wie die chromatische Substanz des Kernes sich intensiv färbt, während das normale Strukturbild des Kernes verschwunden ist. Der Kern kann sich als eine gleichmäßig stark gefärbte Kugel darstellen, die irgendwelche Differenzierung nicht erkennen läßt. Oder aber diese Kugel erscheint an einzelnen Stellen wie zerfressen und ausgefranzt. Andere Male sieht man die chromatischen Elemente nicht als einheitliche stark gefärbte Masse, sondern in Form mehr oder weniger regelmäßiger Körner angeordnet. Die sich so ergebende Tüpfelung kann eine äußerst dichte, aber auch eine sehr geringe sein. In anderen Fällen sind es nicht rundliche Körner, sondern ganz kurze Stäbchen, die regellos den Raum erfüllen, der sich nach Lage und Kontur als Kernraum erweist. Manchmal sind die stark gefärbten Gebilde in der Form eines Kranzes oder Ringes regelmäßig angeordnet. In wieder anderen Fällen stellen sich die chromatischen Elemente als größere stäbchen- und spindelförmige Körper oder unregelmäßig eckige Gebilde dar, die bald in geringer Zahl auftreten, bald zu mehreren vereint als scheinbar geordnete Teilstücke nebeneinander liegen.

Meine Untersuchungen haben das Ergebnis, daß sowohl in den Vaccinepusteln von Kälbern wie in der geimpften Cornea von Kaninchen sich eigentümliche Zelleinschlüsse vorfinden. Die Darstellung der Literatur hat gezeigt, daß alle Autoren, die Schnitte von Hautpusteln und Hornhautvaccineherden studierten, übereinstimmend das

regelmäßige Auftreten der Vaccinekörperchen nach der Impfung konstatiert haben. Diese Tatsache wird also durch die Erfahrungen auch meiner Untersuchungen vollauf bestätigt.

---

2. Abschnitt.

Die über die Natur der intracellulären Vaccinekörperchen aufgestellten Hypothesen.

Während das Auftreten der Vaccinekörperchen nach der Impfung keinem Zweifel unterliegt, ist ihre Bedeutung für den Prozeß eine sehr schwer zu beantwortende Frage. Diejenige Auffassung, welche zuerst ausgesprochen wurde und viele Anhänger gefunden hat, ist die Deutung der Zelleinschlüsse als Parasiten und Erreger von Variola und Vaccine. Dieser Anschauung steht gegenüber die Ansicht, daß die Vaccinekörperchen Zelldegenerationsprodukte sind. Wir wollen die Begründungen dieser Theorien auf ihre Beweiskraft untersuchen, um zu einer Entscheidung darüber zu gelangen, welche von beiden als die berechtigte erscheint.

A) Die Protozoenhypothese.

Die Anhänger der Parasitentheorie führen als Gründe für die Auffassung der Vaccinekörperchen als Protozoen auf:

1. Die Eigenschaften der Vaccinekörperchen, Zusammensetzung aus Kern und Protoplasma, Hofbildung, Wachstum, Vermehrung, amöboide Bewegung.
2. Das regelmäßige Vorkommen in Haut und Hornhaut, die «Züchtung» in der Cornea.
3. Die Spezifität für den Vaccineprozeß, das Fehlen bei andersartiger Impfung.

Die Prüfung der einzelnen Beweispunkte hat festzustellen, ob sie imstande sind, die behauptete Protozoennatur der Vaccinekörperchen zu stützen, ob also diese Theorie zu Recht besteht oder nicht.

1. Die Eigenschaften der Vaccinekörperchen.

Einer der wichtigsten Gründe für die Deutung der Vaccinekörperchen als Zellparasiten ist ihre vermeintliche Zusammensetzung aus Protoplasma und Kern. Diese Behauptung ist schon von Guarnieri aufgestellt worden, nachdem es ihm gelungen war, den angeblichen «Kern» anders zu färben als das «Protoplasma». Bei Doppelfärbungen mit Haematoxylin und Eosin erschien der «Kern» intensiv violett gefärbt, umgeben von einer zart violetten Schicht, während der Rest des Körperchens durch Eosin lebhaft rot gefärbt war. Diese verschiedene Färbbarkeit der zentralen Masse und der peripherischen Schicht ist weiterhin noch oft konstatiert worden; sie tritt auch ein bei Verwendung des Biondischen Gemisches, wie Monti, Hückel u. a. dargetan haben und auch ich feststellen konnte. Allein diese Sonderung in ein Zentrum und eine Randzone, die sich tinktoriell unterscheiden, berechtigt keineswegs dazu, diese differenten Bestandteile ohne weiteres als Kern und Protoplasma eines Parasiten zu identifizieren. So weist Hückel[39]) mit Recht darauf hin, daß auch Produkte der Karyoplasmolyse sich ähnlich verhalten können. Auch an den Russelschen Carcinomkörperchen, die allerdings ebenfalls für Parasiten gehalten wurden, läßt sich mit Doppelfärbungen eine verschiedene Färbung des Zentrums und der Randschicht erreichen. Vor allem aber darf nicht vergessen werden, daß es keineswegs alle Vaccinekörperchen sind, die ein solches Verhalten zeigen: man findet stets eine Menge Körperchen, die keine Spur eines plasmaartigen Saumes erkennen lassen, jene Formen, die Hückel als nackte Körperchen bezeichnet

hat und die ich ebenfalls immer habe konstatieren können. Es wäre doch sehr merkwürdig, wenn diese Parasitenkerne gewissermaßen nackend auf die Welt kämen und sich nachträglich mit einem Protoplasmamantel umhüllen würden. Das Protoplasma müßte also ein Produkt dieses Parasitenkernes sein!

Die «wahre und eigentliche Amöboidform», die Guarnieri für die Protozoentheorie ins Feld führte, trifft man nur äußerst selten. Daß die Körperchen einen großen Formenreichtum aufweisen, ist richtig, die Halbmonde, Spindeln, Sicheln, Dreiecke, Pyramiden u. s. w. haben wir oben kennen gelernt; als wirklich amöboid können aber nur verschwindend wenige Formen bezeichnet werden. Und für angebliche Amöben am meisten befremden müssen die häufigen Formen ausgesprochener Dreiecksfiguren und die radiär gebauten Formen. Es ist somit völlig unzulässig, aus der Gestalt und dem tinktoriellen Verhalten der Vaccinekörperchen auf ihre Parasitennatur zu schließen.

Die Hofbildung um die Vaccinekörperchen war den Verteidigern der Parasitentheorie ein willkommener Vergleichspunkt mit den durch Protozoen verursachten Zellinfektionen: eine Höhle im Protoplasma mit dem Schmarotzer als Inhalt — das sind ja auch bei den Protozoeninfektionen in vielen Fällen anfangs die einzigen bemerkbaren Veränderungen neben einer Vergrößerung der Wirtszelle und dem Beiseitedrängen des Kerns. Guarnieri war der Ansicht, daß das amöboid bewegliche Wesen die direkte Ursache der kavernösen Zerstörung des Zellinhaltes sei, indem es förmlich eine Nische in das Protoplasma hineinfresse, und nannte ja deswegen die Vaccinekörperchen «Cytoryctes». Diese primitive Vorstellung ist durch v. Wasielewski[48]) auf Grund der Kenntnisse über die Ernährung zellschmarotzender Parasiten bereits zurückgewiesen worden; wenn auch amöboide Organismen feste Nahrungsbestandteile aufzunehmen und in

Nahrungsvakuolen zu verdauen vermögen, so ist — abgesehen davon, daß für derartige Vorgänge sich in der Struktur der Vaccinekörperchen nirgends Anhaltspunkte finden lassen — kein Beispiel bekannt, daß Amöben Partikelchen von festen Nahrungsstoffen loslösen und zu ihrer Ernährung verwenden können. Andere Autoren rechneten den hellen Saum zu den Bestandteilen des Vaccinekörperchens selbst. Daß aber die Hofbildung überhaupt keine charakteristische Eigenschaft der Körperchen ist, geht schon daraus hervor, daß der ungefärbte Saum keineswegs regelmäßig vorhanden ist. Manchmal fand Hückel sogar Körperchen ohne Hofbildung fast ebenso zahlreich wie die anderen. Die Vaccinekörperchen sind überhaupt nicht die einzigen Gebilde in den Haut- und Hornhautvaccineherden, die einen hellen Hof um sich haben, auch die Zellkerne selbst weisen sehr oft einen hellen ungefärbten Saum auf, eine Erscheinung, die schon Weigert[1]) und nach ihm vielen anderen beim Studium der Pockenpustel aufgefallen war. Ich muß Hückel daher vollkommen beipflichten, wenn er die Hofbildung als den Durchschnitt eines mit Flüssigkeit gefüllten Hohlraumes auffaßt, der dem Protoplasma angehört, und als Beweis anführt, daß der Hof sehr häufig in den perinucleären Raum frei mündet. Diese Deutung erfährt eine weitere Stütze durch die Beobachtung, daß der perinucleäre Spalt keine spezifische Bedeutung für den Pockenprozeß hat; v. Wasielewski konnte nämlich nachweisen, daß dieselbe Erscheinung auch in Hornhautepithelzellen auftritt, welche steril angelegte Stichwunden begrenzen. Es steht also die Hofbildung in keinem Zusammenhang mit dem Vaccinekörperchen und entbehrt somit jeder Beweiskraft für die Protozoentheorie.

Das Wachstum des «Parasiten» wollte schon Guarnieri festgestellt haben. Er machte darauf aufmerksam, daß in der Nähe des Impfstiches regelmäßig die größten Formen gefunden wurden, während mit zunehmender Entfernung von diesem

Zentrum eine Größenabnahme zu beobachten war. Guarnieri folgerte aus dieser Verteilung, daß die Verschiedenheit im Umfang der Körperchen verschiedene Entwicklungsstadien darstelle. Die Beobachtung Guarnieris entspricht, wie wir uns überzeugen konnten, den tatsächlichen Verhältnissen; für seine Schlußfolgerungen indessen fehlt jeder Anhaltspunkt. Es läßt sich auf keine Weise feststellen, daß die größeren Körperchen durch eine Lebenstätigkeit aus den kleineren, etwa den nackten, entstanden sind. Das «Wachstum» der Körperchen kann vielmehr nur als Ausdruck einer Volumenszunahme durch Quellung erklärt werden, Vorgänge, deren größte Intensität im Zentrum des Vaccineherdes statthat; darauf deutet direkt das verschiedene färberische Verhalten hin; während nämlich gerade die kleinsten Körperchen sich am stärksten tingieren, stellen sich die größeren fast stets viel heller gefärbt dar.

Ebensowenig wie das «Wachstum» kann die angebliche «Vermehrung» der Parasiten, die als Hauptbeweis für die belebte Natur der Vaccinekörperchen angeführt wurde, der Kritik standhalten. Alle Autoren, welche die Vaccinekörperchen als Parasiten erklären, beschreiben auch Vermehrungsarten der «Protozoen». Guarnieri und nach ihm seine Anhänger stellten die Theorie auf, daß die Körperchen sich durch Spaltung direkt zweiteilen und auf diese Weise vermehren und fortpflanzen sollten. Diese Behauptung gründet sich auf bestimmte Körperchenformen, die als Teilungsbilder gedeutet wurden. Als solche findet man angeführt Doppelformen, langgestreckte, bisquit- und sanduhrähnliche Gebilde, Hantel-, 8-, Hefeformen. Demgegenüber betonen die Gegner der Protozoentheorie, daß solche Gestalten nur aus der Unzahl vielgestaltiger Formen herausgegriffen sind und überhaupt nur in sehr beschränkter Menge vorkommen. Hückel, der sich eingehend mit den angeblichen Teilungsformen beschäftigt hat, kommt zu dem Schluß, «daß wohl Teilungen von

Körperchen vorkommen mögen, indem letztere einfach in Stücke auseinanderfallen, die a priori nur durch schmale Verbindungen zusammenhingen, oder zwischen sich tiefe Incisionen bargen, daß aber das Walten einer aktiven Lebenskraft sich nicht nachweisen läßt.»

Das Mißverhältnis der angeblichen Akte einer Zweiteilung gegenüber der großen Zahl der Körperchen in den Schnitten ist auch von Anhängern der Parasitennatur der Körperchen auffallend gefunden worden. Daher wurden noch andere Vermehrungstypen statuiert: Teilung durch Karyokinese und Bildung von Sporen. Guarnieri, Clarke, Bosc u. a. nahmen eine Teilung durch eine «primitive Karyokinese» an, da die schon getrennten «Kerne» zuweilen noch durch zarte Fasern zusammenhängen sollten. Guarnieri, L. Pfeiffer u. a. beschrieben noch eine Vermehrung mittels Sporen, die wie die Blätter eines Gänseblümchens angeordnet seien, oder, weniger regelmäßig angehäuft, eine Art Maulbeerkörper bilden. Siegel[44]) konstruierte sogar 1900 aus den Zelleinschlüssen den Entwicklungsgang einer Coccidie. v. Wasielewski[34]) hielt 1897 die von ihm beobachteten Vorsprünge an einzelnen Körperchen für Keimbildungen. Alle solche Gestalten der Vaccinekörperchen, die auch wir in der Tat beobachteten, können aus dem einfachen Grund als Karyokinesen oder Keimanlagen nicht anerkannt werden, weil ihnen diejenige Eigenschaft fehlt, die unbedingt für Keimprodukte zu verlangen ist: Regelmäßigkeit und Gleichmäßigkeit der Form. Guarnieri[35]) selbst nahm übrigens 1897 seine Behauptung der Vermehrung durch Sporenbildung zurück, wie auch L. Pfeiffer[29. 67]) die früher von ihm als zweite Wachstumsart der Parasiten gedeuteten Bilder 1896 als Quellungsvorgänge und Degenerationszustände auffaßte. Alle die in Betracht kommenden Bildungen zeigen eine so ungemein schwankende Gestalt und Verschiedenheit, daß jeder Versuch, einen gesetzmäßigen Entwicklungskreis

zwischen solchen Formen zu konstruieren, ein völlig haltloses Beginnen ist.

Dasselbe gilt von den intranucleären Gebilden, die von Gorini als Vorstufe der Cytoryctes, von Bosc sowie von Councilman, Magrath und Brinckerhoff als Sporen beschrieben wurden. Man hat den letzteren Befund damit zu entkräften gesucht, daß man einwandte, das Material der drei Autoren, menschliches Leichenmaterial, sei deswegen schon mancherlei zersetzenden Einflüssen ausgesetzt gewesen, ehe man es präparierte. Jedoch sind auch mir in Vaccinepusteln vom Kalb bei Benützung eines Materials, bei dem dieser Vorwurf nicht zutrifft, Veränderungen des Kernes der Epithelzellen aufgefallen, die ich oben erwähnte. Aus meinen Beschreibungen geht aber hervor, daß es sich hier um Zerfallserscheinungen der Kerne handelt; wenn auch unter den verschiedenen Darstellungsformen dieser Veränderungen hie und da Gebilde auftreten, die bei einiger Phantasie als Sporulationsvorgänge gedeutet werden könnten, so ist es nicht angängig, solche Formen aus dem Gesamtbild der Zerfallserscheinungen herauszureißen und ihnen eine Rolle aufzuoktroyieren, zu der ihr ganzer Charakter auch nicht entfernt berechtigt. Die Kernveränderungen endlich, die Gorini in Zusammenhang mit den Zelleinschlüssen des Protoplasmas bringt, gehören vielmehr in den Rahmen der ballonierenden Degeneration, als deren Erscheinungen sie oben angeführt wurden.

Die amöboide Bewegung der Zelleinschlüsse war für die Verteidiger der Protozoentheorie der überzeugendste Beweis für die Parasitennatur der Vaccinekörperchen. In der Tat würde der exact beobachtete Nachweis sicherer amöboider Bewegung entscheidend für die Auffassung der Körperchen sein. Guarnieri, Monti, L. Pfeiffer wollten amöboide Bewegung der Zelleinschlüsse im abgeschabten Epithel der geimpften Kaninchenhornhaut gesehen haben. Guarnieri betonte aber, daß die Beobachtung dieses Phänomens sehr

schwierig wäre, da das Protoplasma der Epithelzellen auch in den günstigsten Fällen immer trübe sei. Bei der Schwierigkeit der Untersuchungsbedingungen hätten sich die Autoren also eine größere Reserve in dieser einschneidenden Frage auferlegen sollen. E. Pfeiffer[24]) konnte an den Körperchen im Abschabsel des Epithels der geimpften Meerschweinchenaugen nur eine molekulare Bewegung konstatieren. Salmon[36]) hebt ausdrücklich hervor, keinerlei Amöboidbewegungen der Körperchen gesehen zu haben, und Bosc[68]) spricht sich sehr zurückhaltend und vorsichtig über das Vorkommen solcher Bewegung aus. Hückel gelang es selbst bei der schonendsten Versuchsanordnung nicht, amöboide Bewegung an den Vaccinekörperchen nachzuweisen; er beobachtete wohl Beweglichkeit der Leukocyten, die schon wenige Minuten nach der Präparation in bekannter Weise umherkrochen, aber in keinem einzigen Vaccinekörperchen war auch nur der leiseste Wechsel der Gestalt wahrzunehmen, namentlich auch nicht an den amöbenähnlichsten, mit lappigen Fortsätzen ausgestatteten Formen. Vergleicht man mit diesen Ergebnissen die Behauptungen Guarnieris und seiner Anhänger, amöboide Bewegung gesehen zu haben, so darf man dieses positive Resultat dem negativen nicht als gleichwertig gegenüberstellen, weil die Versuchsbedingungen, unter denen die Amöboidbewegungen aufgetreten sein sollen, Beobachtungsfehler nicht ausschlossen.

Bisher muß also die amöboide Bewegung der Vaccinekörperchen als nicht festgestellt betrachtet werden.

Fassen wir alle diese Tatsachen zusammen, so kommen wir zu dem Schluß, daß die jetzigen Kenntnisse von den Eigenschaften und morphologischen Merkmalen der Vaccinekörperchen in keiner Weise zu Gunsten ihrer angeblichen Parasitennatur geltend gemacht werden können. Damit fällt aber auch die Hauptstütze der Protozoenhypothese.

2. Das regelmäßige Vorkommen der Vaccinekörperchen in der geimpften Haut und Hornhaut.

Bei der Schilderung der Morphologie der Vaccinekörperchen ergab sich, daß alle Untersucher von Haut- und Hornhautvaccineherden das regelmäßige Auftreten von Vaccinekörperchen nach der Impfung übereinstimmend festgestellt haben. Diese unbestreitbare Tatsache ist ebenfalls als Beweis für die Parasitennatur der Körperchen angeführt worden. Die Resultate der Corneaimpfung sollten sogar die unwiderlegliche Bedeutung einer «Züchtung», ja «Reinzüchtung» des Erregers haben. Als wichtiges Argument galt die Fortzüchtung einer wirksamen Vaccine im Epithel der Kaninchenhornhaut, die E. Pfeiffer, dann besonders v. Wasielewski[48]) bis zur 46. Generation erfolgreich durchgeführt haben. Solche Beobachtungen, die durch Impfungen auf Kälber und Rinder bestätigt wurden, beweisen, daß das Auftreten der Vaccinekörperchen im Zusammenhang mit dem wirksamen Agens der Lymphe steht, und daß das Contagium im Epithel seinen Sitz hat, was ja längst bekannt ist — mehr aber nicht. Sie beweisen ferner, daß nicht nur in dem Epithel der Haut, sondern auch der Hornhaut der Impfstoff sich vermehrt und fortpflanzt. Die Deutung der Vaccinekörperchen als Parasiten wird dadurch um nichts berechtigter. Die Illusion der «Züchtung» wird durch Hückel treffend zurückgewiesen: «Guarnieri hat das Contagium in die Hornhaut eingepflanzt und ihm so Gelegenheit gegeben, sich dort zu entwickeln, ohne irgendwie diese Entwicklung durch Zuchtmittel nach seinem Willen lenken oder auch nur beeinflussen zu können. Er hat damit nur getan, was man seit hundert Jahren bei jeder Vaccination vornimmt, er hat einfach die Vaccine bezw. Variola in ein Epithelgewebe inokuliert und die natürliche Entwicklung des Prozesses abgewartet.» Das regelmäßige Auftreten der Körperchen also bezeugt ihre Abhängigkeit

und anatomische Zugehörigkeit zum Vaccinevorgang, ohne aber irgend einen Beweis für ihre Parasitennatur abzugeben.

3. Die Spezifität der Vaccinekörperchen für den Vaccineprozeß.

Zu Gunsten der Protozoentheorie wurde endlich die Spezifität der Vaccinekörperchen für den Vaccineprozeß verwertet. Zur Sicherstellung dieser Frage wurden zahlreiche Untersuchungen ausgeführt, die wegen ihrer Bedeutung für die Auffassung der Vaccinekörperchen im folgenden Abschnitt eine gesonderte Besprechung erfahren werden. Vorwegnehmend ist über den Wert dieses Punktes für die Protozoenhypothese zu sagen: wenn auch den Vaccinekörperchen in einer Beziehung wenigstens, in ihrem färberischen Verhalten, eine Spezifität für den Vaccineprozeß zukommt, so gewinnt damit die Parasitenhypothese der Körperchen ebensowenig an Beweiskraft, wie durch die Tatsache ihres regelmäßigen Auftretens. Es wird dadurch nur aufs neue die Beobachtung bestätigt, daß ein Zusammenhang zwischen Impfung und Körperchen vorhanden ist.

Nach Prüfung aller dieser von den Anhängern der Protozoenhypothese vorgebrachten Beweisgründe müssen wir den Schluß, daß die Vaccinekörperchen auch nur mit Wahrscheinlichkeit als Parasiten und Erreger von Variola und Vaccine anzusehen seien, als durchaus unberechtigt und unbewiesen bezeichnen.

B) Die Degenerationshypothesen.

Mit der Erkenntnis, daß die Vaccinekörperchen nach dem vorliegenden Tatsachenmaterial als selbständige belebte Gebilde nicht angesprochen werden können, bleibt die Zahl der Erklärungsmöglichkeit für diese Zelleinschlüsse beschränkt. Da nur die Protozoenhypothese eine Invasion der Körperchen

von außen her statuiert hat, so muß mit der Ablehnung dieser Theorie auch der Gedanke eines körperfremden Ursprungs der Gebilde fallen. Es kann sich dann nur um pathologische Vorgänge an der Impfstelle selbst handeln, um Degenerationserscheinungen, die entweder in die Epithelzellen eingedrungene Leukocyten oder das Protoplasma, beziehungsweise den Kern der Epithelzellen selbst betreffen.

Bevor wir auf diese Erklärungsmöglichkeiten eingehen, wollen wir zuerst die Gründe kennen lernen, die wir zu Gunsten der Deutung der Körperchen als Degenerationsprodukte anführen können.

I. Gründe für die Auffassung der Vaccinekörperchen als Degenerationsprodukte.

Ein indirekter Beweis für die Auffassung der Vaccinekörperchen als Produkte degenerativer Vorgänge wurde schon geliefert durch die Begründung der von uns vertretenen Anschauung, daß es sich bei den Gebilden nicht um Parasiten handeln kann. Als direkte Beweise sind zu besprechen:

1. Gleichwert aller Körperchenformen.
2. Auftreten der Vaccinekörperchen bei der Revaccination.
3. Auftreten ähnlicher Zelleinschlüsse bei andersartiger Reizung.
4. Fortdauer der Virulenz der vaccinierten Hornhaut nach Schwund der Vaccinekörperchen.
5. Filtrierbarkeit des Virus der Vaccine.

1. Gleichwert aller Körperchenformen.

Die Lehre der Gleichwertigkeit der verschiedenen Körperchenformen ist von Hückel[39]) aufgestellt worden. Er begründet diesen Satz mit dem Nachweis, daß eine Reihe

gleicher Eigenschaften allen Formen zukommt. Die vorzugsweise Lagerung der Körperchen in nächster Nähe des Kernes ist, wie auch wir beobachtet haben, die Regel, die dadurch nicht umgestoßen wird, daß manchmal auch weiter vom Zellkern entfernt im Zelleib ein Körperchen sich finden kann. Und zwar liegen die Körperchen besonders häufig gerade im perinucleären Spalt. Die Affinität zu Kernfarben betrifft alle Körperchen; der Teil der Zelleinschlüsse, der sich mit Biondi blau färbt, die «cyanophile Masse», wird von Hückel, da stets vorhanden, als Körperchen im engeren Sinn betrachtet. Deren Attribute, die sich mit Säurefuchsin rot färbenden Körner-, Tropfen-, Faden- und Mantelgebilde, lassen sich auch als Zeichen für den Gleichwert der Körperchen anführen. Ferner ist das Schicksal aller Körperchen ein gemeinsames, nämlich Degeneration und Zerfall, welchen in der Hauptsache Quellungsvorgänge zu Grunde liegen. Als wichtiges Argument für die Äquivalenz der Körperchen bezeichnet Hückel die Kombinationsformen und die Zwischen- oder Übergangsformen. Es finden sich alle Zwischenstufen zwischen runden Formen, einfach abgeplatteten Kugeln, Halbkugeln, Halbmonden u. s. w. Die Halbmondgestalten sind wieder mit den Dreieckskörperchen durch Übergänge verbunden. Die Kombinationsformen schließlich scheinen wie zusammengesetzt aus zwei diversen, sonst getrennt vorkommenden Formen, z. B. aus Kegelform und Sichelform.

Bei dieser Zusammengehörigkeit aller Körperchen ist es unzulässig, einzelne Formen auszuwählen, die gerade die gewünschte Gestalt besitzen, und daraus nun den Entwicklungskreis eines Parasiten zu konstruieren. Man muß die Tatsache der Vielgestaltigkeit der Körperchen vielmehr als den Ausdruck degenerativer Vorgänge betrachten, welche bald regelmäßige, bald unregelmäßige Bilder schaffen.

2. Auftreten der Vaccinekörperchen bei der Revaccination.

Durch Überstehen einer lokalen Vaccineinfektion tritt Immunität gegen weitere Impfungen mit Kuhpocken nicht nur beim Menschen, sondern auch beim Kaninchen ein, wie dies Hückel sowie Voigt[72]) nachgewiesen haben. Es ist also klar, daß das Contagium in einem immunisierten Organismus bei der Revaccination sich nicht entwickelt und vermehrt. Wenn die Vaccinekörperchen die Erreger der Vaccine wären, so müßte ihr Auftreten bei einer zweiten Impfung höchstens ein ganz spärliches sein oder eigentlich ganz fehlen. Dies ist aber nicht der Fall. Vielmehr hat schon Hückel gefunden, daß Nachimpfungen auf die Cornea bei Tieren, die an den Nüstern oder auf der behaarten Haut vorgeimpft waren, in zwei von vier Fällen «zahlreiche schönste Körperchen» zur Folge hatten.

Zu demselben Resultat kam Paschen[71]); er nahm an der Cornea einer größeren Reihe von Kaninchen, die vorher in ausgiebiger Weise nach Calmette und Guérin auf den Bauch geimpft waren, Revaccination vor: bei sämtlichen Fällen fanden sich Vaccinekörperchen, teilweise sogar in sehr großer Zahl.

Es zeigt sich aufs neue, daß die Vaccinekörperchen auf den Reiz des Impfstoffes hin entstehen; ihr zahlreiches Auftreten in immunisierten Tieren ist aber mit der Annahme selbständiger, die Infektion tragender belebter Körperchen nicht vereinbar; es muß sich vielmehr um eine Degenerationserscheinung handeln, die als typische Reaktion der Epithelzellen auf den eingeführten Impfstoff auftritt.

3. Auftreten ähnlicher Zelleinschlüsse bei andersartiger Reizung.

Zur Beantwortung der Frage, ob die Vaccinekörperchen nur nach Impfung mit Variola- und Vaccinelymphe, oder

auch nach andersartiger Reizung auftreten, sind zahlreiche Kontrolluntersuchungen ausgeführt worden. Die Mehrzahl der Autoren erklärte sich für die Spezifität der Körperchen für den Vaccineprozeß. Monti, L. Pfeiffer, E. Pfeiffer, Salmon, Hückel, Bossalino, Gorini konstatierten das Fehlen der Vaccinekörperchen in der Cornea bezw. Haut nach chemischer Reizung, wobei zur Prüfung gelangte Glycerin, sterile Bouillon, Osmiumsäure, Krotonöl, Höllenstein, Canthariden, Semen sinapis, Senega u. dgl. Desgleichen hatten sowohl rein mechanische Mittel, sterile Verletzung, Verbrennung der Cornea, Einbringen von Tusche bei Hückel, Bossalino, v. Wasielewski, Foà, als auch Impfungen mit Reinkulturen aus der Lymphe gezüchteter Bakterien bei Monti sowie Hückel das gleiche negative Resultat. Auch die Verimpfung von Krankheitsprodukten, erkrankter Haut, Eiter, Lymphe durch Monti, Salmon, Gorini, von Myxomyceten durch Gorini, von Monilia candida Hansen sowie Blaseninhalt von Maul- und Klauenseuche durch v. Wasielewski blieben ergebnislos.

Diesen zahlreichen negativen Resultaten steht die Behauptung einiger Autoren gegenüber, bei Kontrollimpfungen die gleichen Zelleinschlüsse wie in Vaccineherden erzeugt zu haben. So gaben Clarke sowie E. Pfeiffer an, nach Impfung mit Schankersekret den Guarnierischen Körperchen analoge Gebilde wahrgenommen zu haben. Aber diese Versuche scheiden aus der Konkurrenz aus, da die Verfasser, wie aus ihren Abbildungen hervorgeht, sich nicht nur mit den intraepithelialen Zelleinschlüssen, sondern auch mit interepithelialen freien Formen beschäftigt haben. Ferroni und Massari behaupteten, daß es ihnen gelungen sei, typische Vaccinekörperchen durch Reizung mit Krotonöl und mit Osmiumsäure erzeugt zu haben. London wollte das Auftreten von Vaccinekörperchen nach Impfung der Cornea mit Trippersekret, Faeces, Staphylococcen, steriler Bouillon beobachtet haben. Ssikorsky berichtete ebenfalls, er habe die gleichen

Gebilde auf der Hornhaut von Kaninchen mit Serum verschiedener Tiere, mit der Flüssigkeit der Vorderkammer des Frosches und mit Diphtherietoxin erhalten.

Wir sehen also die Meinungen der Autoren geteilt: Spezifität nach den einen, Nichtspezifität nach den anderen. Das Rätsel dieses Widerspruches wird gelöst durch das färberische Verhalten der Gebilde. Hückel beobachtete bei verschiedenen Reizzuständen Körperchen im Cytoplasma, die nach ihrer morphologischen Erscheinung die größte Ähnlichkeit mit den echten Vaccinekörperchen hatten. Ihre Umrisse, das Auftreten von Fädchennetzen und die Hofbildung entsprach ganz den gleichen Verhältnissen bei den Vaccinekörperchen. Solche nach Gestalt und Lage gewissen Formen der Guarnierischen Körperchen analoge Gebilde fanden sich nach Einwirkung von Osmiumsäure sowie nach sympathischer Reizung der Cornea. Der wohlcharakterisierte Unterschied gegenüber den Vaccinekörperchen bestand in dem tinktoriellen Verhalten. Während nämlich bei Anwendung der Biondi-Mischung die Vaccinekörperchen stets blau werden, färben sich die nach indifferenter Reizung entstehenden Körperchen mit dem Säurefuchsin des Farbengemisches rot. Nach dieser verschiedenen Farbenaffinität bezeichnet Hückel die Vaccinekörperchen als «cyanophil», die anderen als «erythrophil».

Die Angaben Hückels werden bestätigt durch v. Wasielewski, der bei steriler Verletzung der Kaninchenhornhaut ebenfalls erythrophile, aber nie cyanophile Körperchen beobachtete. Zu dem gleichen Resultat kam A. Foà. Ich hatte bisher leider keine Gelegenheit, diese Experimente an der Cornea durch Untersuchungen analoger Reizzustände der Haut zu vervollständigen. Es scheint aber nach den Erfahrungen dieser Autoren keinem Zweifel zu unterliegen, daß wir in dem färberischen Verhalten gegenüber dem Biondischen Gemisch ein Kriterium

besitzen, die Vaccinekörperchen sicher von den bei andersartiger Reizung entstehenden Körperchen zu unterscheiden. So sind die Guarnierischen Körperchen in einer Hinsicht spezifisch für den Vaccineprozeß — in ihrer Färbbarkeit. Aber noch eine andere Tatsache darf man aus diesen Ergebnissen festhalten: Das Auftreten von eigentümlichen Gebilden gleicher Gestalt und Lage — allerdings verschiedener Tingibilität — innerhalb des Cytoplasmas der Epithelzellen ist nichts absolut Charakteristisches für die Vaccineimpfung, es ist ihr gemeinsam mit andersartigen Reizungen. In dieser einen Beziehung entbehren also die Guarnierischen Körperchen jedenfalls der Spezifität, und dieser Punkt kann sehr wohl zu Gunsten der Auffassung der Vaccinekörperchen als Degenerationsprodukte angeführt werden.

4. Fortdauer der Virulenz der vaccinierten Hornhaut nach Schwund der Vaccinekörperchen.

Käme den Körperchen wirklich die Rolle der erregenden Parasiten zu, so müßte die Verimpfbarkeit von Vaccineherden erlöschen, sobald die Einschlüsse durch Einwirkung chemischer Mittel in ihrer Struktur gelitten haben oder nicht mehr nachweisbar sind. Diese Frage des Zusammenhanges zwischen Vaccinekörperchen und Virulenz suchte A. Foà experimentell klarzulegen. Anna Foà[60]) legte geimpfte Hornhäute $2^1/_2-3$ Tage nach der Impfung 1—24 Stunden lang in Wasser; nach dieser Zeit zerfallen die Epithelzellen, die Guarnierischen Körperchen verändern sich stark und verschwinden schließlich: das Virus aber ist unverändert geblieben. Eine größere solche Versuchsreihe, Behandlung der vaccinierten Hornhaut mit 10% Chlornatriumlösung u. dgl. hatte stets das übereinstimmende Ergebnis, daß die als Impfmaterial benutzten Stücke lange Zeit und unter allen Umständen ihre Wirksamkeit bewahrten, während die Cyto-

ryctes wesentliche Veränderungen erfahren hatten oder selbst verschwunden waren.

Diese Resultate zeigen auf experimentellem Wege, daß den Körperchen nicht die Rolle eines ätiologischen Agens zukommt. Die Unabhängigkeit der Virulenz von dem Erhaltensein der Körperchen drängt zu der Auffassung, daß die Cytoryctes vielmehr Degenerationsprodukte darstellen.

5. Filtrierbarkeit des Virus der Vaccine.

Zu Gunsten der Degenerationshypothese der Körperchen läßt sich endlich noch die mutmaßliche Größe des Vaccineerregers anführen. Das Verhalten eines unbekannten Kontagiums bei der Filtration wird als Maßstab für die ungefähre Größe des Erregers erachtet. Ein filtrierbares Virus steht an der Grenze des Sichtbaren; das hat sich bei der Maul- und Klauenseuche, Lungenseuche, Pferdesterbe, Tiroler Hühnerseuche u. s. w. gezeigt; die Erreger der Lungenseuche konnte Nocard im Filtrat eben noch als kleinste Punkte erkennen, besonders wenn sie in größerer Menge zusammengelagert waren.

Während bei früheren Versuchen (Schulz und Weyl[5]) u. a.) Impfungen mit filtrierter Lymphe erfolglos ausfielen, scheint aus neueren Untersuchungen hervorzugehen, daß auch das Virus der Vaccine filtrierbar ist. Wenn Borrel[65]) Schafblatternlymphe durch Chamberland-Kerzen schickte, so war bei langsamer und kontinuierlicher Filtration das Virus auch im Filtrat nachweisbar.

Casagrandi[66]) konnte (1904) mit filtrierter Vaccine Hunde gegen frische nicht filtrierte Lymphe immunisieren und ist daher geneigt, anzunehmen, daß die Vaccineerreger das Filter passieren. Siegel[74]) vertritt (1905) denselben Standpunkt auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse: Impfungen mit dem Filtrat von Organsaft und Blut eines zuvor geimpften Kaninchens auf die Cornea dreier Kaninchen

erzeugte in einem Falle deutliche Entwicklung der Guarnieri-schen Körperchen im Plasma der Corneaepithelzellen, ein Beweis dafür, «daß, wenn auch nicht regelmäßig, doch eine Impfung mit Filtrat in einem gewissen Prozentsatz der Impfungen gelingen kann».

Wenn also die Vaccineerreger filtrierbar sind, so gehören auch sie in die Gruppe jener Erreger, die an der Grenze des Sichtbaren stehen. Damit kontrastiert die Größe der Vaccinekörperchen, die in ihrer angeblichen Entwicklung einen sogar recht beträchtlichen Umfang erreichen. Also auch aus diesem Grunde ist die Protozoentheorie der Vaccinekörperchen abzulehnen.

Nach diesen Ausführungen kommen wir zu dem Ergebnis, daß bei dem heutigen Stand der Kenntnisse den Vaccinekörperchen nur die Rolle von Degenerationsprodukten zuerkannt werden kann. Es vertragen sich nach unserer Auffassung alle bekannten Tatsachen nur mit einer solchen Deutung, während die Annahme der Parasitennatur der Körperchen eine gänzlich unbewiesene und zur Zeit unbeweisbare Hypothese ist.

II. Erklärungsmöglichkeiten der Vaccinekörperchen.

A) Fremde Erklärungsversuche.

(Nach den Angaben der Literatur.)

1. Die Leukocytenhypothese.

Einen Anklang an die Protozoentheorie stellt die Auffassung dar, die Zelleinschlüsse seien Leukocyten, beziehungsweise Zerfallsprodukte von solchen. Auch diese Anschauung erklärt die Entstehung der Körperchen durch eine Invasion extracellulärer Elemente in die Epithelzellen, allerdings nicht eine Invasion körperfremder Protozoen, sondern der körpereigenen Wanderzellen. Ferroni und Massari[10, 23]) waren 1893 die ersten, die auf die Möglichkeit hinwiesen, daß Leu-

kocyten bei der Entstehung der Vaccinekörperchen beteiligt wären; sie gaben jedoch selbst zu, diese Annahme nicht beweisen zu können, und hielten die Zahl der Leukocyten nicht für groß genug, um die beträchtliche Anzahl der Körperchen zu erklären.

Dagegen glaubte Salmon[36]) 1897 mit Sicherheit die Identität der Vaccinekörperchen mit Zerfallsprodukten der Leukocyten bewiesen zu haben. Sein Hauptargument fußt auf einer von ihm angefertigten Färbungstabelle, auf welcher er eine Differentialdiagnose zwischen normaler Weise vorhandenen Zellbestandteilen einerseits und den Körperchen sowie Leukocyten andererseits aufbaut. Über die Ursache der von ihm behaupteten merkwürdigen Zerbröckelung der Leukocytenkerne und der gleichmäßigen Verteilung dieser Kernbröckel in den Epithelzellen des Impfherdes wußte Salmon keine Angaben zu machen. Wir finden weiterhin nur noch zwei Autoren, London[41]) (1898) sowie Ssikorsky[55]) (1902), als Anhänger der Salmonschen Auffassung. Die Leukocytentheorie wird auch durch die Beobachtung Londons, daß vom dritten Tag an nirgends mehr normale Leukocyten, sondern nur überall Zerfallsprodukte der letzteren zu sehen seien, unserem Verständnis nicht näher gebracht.

Es besitzt somit die Leukocytenhypothese wenig Überzeugendes. Die gleiche Farbenreaktion der Leukocytenkerne und Vaccinekörperchen, auf die Salmon so viel Gewicht legt, versagt bei der Wahl anderer Färbungsmethoden. Mit der Alaunfuchsin-Haematoxylin-Methode v. Wasielewskis erhält man die Körperchen rot gefärbt, während die Kerne der Leukocyten wie der übrigen Gewebszellen violett erscheinen. Bei Anwendung der Biondi-Mischung sowie Jodgrünfuchsin tritt ebenfalls differente Färbung der Leukocyten und Körperchen ein. Auch experimentell versuchte Hückel, diese Hypothese zu widerlegen, indem er sich die phagocytären Eigenschaften der Leukocyten zunutze machte: wenn

er Kaninchen, die in die Cornea geimpft waren, angeriebene Tusche in die Augen träufelte, so zeigte sich in den später untersuchten Schnittpräparaten, daß die Vaccinekörperchen nicht von schwarzem Pigment begleitet waren; diejenigen Zelleinschlüsse, welche solches aufwiesen, konnten stets auch an anderen Zeichen ihres äußeren Verhaltens als eingedrungene Leukocyten erkannt werden.

Es muß daher die Leukocytenhypothese als durchaus unbewiesen und unwahrscheinlich völlig abgelehnt werden.

2. Die Cytoplasmahypothese.

Nach Ausschluß der Leukocytenhypothese können nur noch Teile der Epithelzelle selbst zur Erklärung der Vaccinekörperchen herangezogen werden, und zwar kommt sowohl das Protoplasma als der Kern für die Entstehung der Zelleinschlüsse in Frage. Die Abstammung der Körperchen vom Zellprotoplasma wird von Hückel[39]) vertreten. Nach seiner Hypothese wird bei der Entwicklung und Vermehrung des Vaccinekontagiums ein Giftstoff frei, welcher eine eigenartige Erkrankung gewisser Teile der Markschicht des Zelleibes bewirkt. Die hierbei entstehenden eigentümlichen Bildungen, die Vaccinekörperchen, deren mannigfache Gestalten durch wechselnde und noch unbekannte Strukturverhältnisse des Zellprotoplasmas bedingt sein sollen, erscheinen danach als direkte Abkömmlinge des Cytoplasmas. Maßgebend für diese Auffassung war der Nachweis, daß die Markschicht des Protoplasmas den Vaccinekörperchen ähnliche Veränderungen zeigt, die sowohl nach Vaccineimpfung wie nach anderen Reizzuständen des Auges auftreten. Diese im Gegensatz zu den «cyanophilen» Vaccinekörperchen «erythrophilen» Gebilde, deren Vorkommen bei Osmiumätzung u. s. w. oben erörtert wurde, treten nach Vaccineimpfung in Epithelzellen auf, welche keine Vaccinekörperchen einschließen.

Hückel stellt sich nun vor, daß die Wirkung des Vaccinegiftes auf die Epithelzellen sich aus zwei Komponenten zusammensetzt, aus einer «dissoziierenden» und einer «chemisch verändernd wirkenden». Die dissoziierende Komponente, welche nicht der Vaccine allein eigentümlich ist, läßt die erythrophilen Gebilde entstehen, indem sie bewirkt, daß sich die Körperchen aus dem Zelleib herausheben und von demselben loslösen. Die chemisch verändernd wirkende Komponente ist für das Vaccinegift spezifisch und läßt die cyanophilen Vaccinekörperchen entstehen. Diese können entweder durch eine Umbildung aus den erythrophilen hervorgehen oder sich direkt aus erkrankten Teilen der Markschicht des Zellprotoplasmas herausheben, wobei mit einer chemischen Wandlung auch ihre Affinität zu gewissen Farben wechselt, so daß sie nunmehr cyanophil sind.

Die Theorie Hückels ist ohne Zweifel sehr geistreich und wohl imstande, die Bildung der Vaccinekörperchen zu erklären. Aber sie ist auch sehr kompliziert und stützt sich auf Hypothesen, die zur Zeit weder bewiesen noch widerlegt werden können. Jedenfalls steht die von ihm angenommene Umwandlung normaler Cytoplasmateile in eine Modifikation, die tinktoriell wie der Kern reagiert, ohne Analogie da und muß für unsere bisherigen Anschauungen befremdlich erscheinen.

3. Die Zellkernhypothesen.

Von verschiedenen Autoren sind die Vaccinekörperchen als Abkömmlinge des Kernes der Epithelzellen bezeichnet worden. Die Körperchen wurden von Centrosomen, von Nucleolen, vom Kernsaft und vom Chromatingerüst abgeleitet. An eine Abstammung der Vaccinekörperchen von Centrosomen dachten Ferroni und Massari[10, 23]). Gegen eine solche Deutung müssen folgende Gründe sprechen: Es finden sich Körperchen auch in Zellen mit karyokinetischen Teilungs-

bildern neben den Centrosomen; dieses gleichzeitige Vorhandensein ist von Hückel sowie von v. Wasielewski beobachtet worden. Größe, Form, Bauart, multiples Auftreten in einer Zelle lassen sich selbst mit der Annahme entarteter Centrosome nicht vereinigen. Die Ableitung der Körperchen von Centrosomen ist daher unzulässig.

Eine andere Ansicht hält die Vaccinekörperchen für ausgetretene Nucleolen. Babes[15]) hatte 1894 diese Möglichkeit ausgesprochen, und auch Copeman und Mann[20.22.43]) vertraten 1900 denselben Standpunkt. In Betracht kommen für eine solche Deutung nur die kleinen, runden, nackten Formen. Babes vermißte in den Kernen der besetzten Zellen einen Nucleolus und schloß daraus, daß das Vaccinekörperchen das ausgewanderte Kernkörperchen sei. Diese Folgerung ist aber unberechtigt. In den Hornhautepithelzellen sind nämlich nach Hückels hierauf gerichteten Untersuchungen echte Nucleolen auch außerhalb des eigentlichen Krankheitsherdes äußerst schwer nachweisbar und recht ungleich färbbar. Oft fehlen auch in körperchenfreien Zellen an der Impfstelle die Nucleolen. Andererseits wurden Zellen beobachtet, in welchen sowohl mehrere Nucleolen im Kern, als mehrere Körperchen außerhalb des Kernes lagen. Endlich nehmen bei Färbung mit Jodgrünfuchsin die Nucleolen der Hornhautepithelzellen nie die Rotfärbung an, welche die Körperchen zeigen. Ein Zusammenhang der Vaccinekörperchen mit den Nucleolen kann daher ausgeschlossen werden.

Auch die Abstammung der Vaccinekörperchen vom Kernsaft ist in Betracht gezogen worden. Copeman und Mann führten die Bildung der Körperchen auf Kernsekretion zurück. Ihre Vermutung über den Anlaß dieser Sekretion des Kernes kann allerdings nicht gebilligt werden. Es soll nämlich die Bildung des perinucleären Raumes das Hindernis bilden, welches den — angeblich normaler Weise erfolgenden — Übertritt der Substanz aus dem Kern in das Cytoplasma

hemmt; auf diese Weise sollte die Abscheidung in Halbmondform zwischen Kern und Protoplasma erfolgen müssen. Dem ist entgegenzuhalten, daß sich Körperchen auch ohne Hof finden, und daß andererseits Hofbildung um den Kern bei anderen Reizzuständen des Epithels vorhanden ist, ohne daß Vaccinekörperchen auftreten. Für die Entstehung eines Teiles der Körperchen gibt übrigens auch Hückel zu, daß unter Umständen Bestandteile aus dem Kernsaft in Tröpfchenform heraustreten und an der Kernoberfläche sich in Vaccinekörperchen umwandeln könnten.

An eine Bildung von Vaccinekörperchen durch Kernsekretion dürfte man höchstens bei einer Minderzahl von Körperchen denken, indem man dann von ihrer Gestalt und Lage auf ihre Herkunft schließt. Aber weitere Beweise lassen sich für eine solche Abstammung nicht anführen.

Die letzte Erklärungsmöglichkeit, die noch zu besprechen übrig ist, leitet die Vaccinekörperchen vom Chromatingerüst ab. Ferroni und Massari hielten die Abkunft der Körperchen vom Kern für denkbar; genauere Angaben, wie sie sich die Abstammung vom Kern vorstellten, machten die Verfasser nicht, sie sprachen nur davon, daß es sich um karyolytische Vorgänge handeln könne. Leoni[18]) vermutete in den Körperchen nekrotische Stücke des Zellkerns; eingehendere Untersuchungen hatte er nicht angestellt. Auch Gorini sprach die Möglichkeit aus, daß die Cytoryctes das Produkt nucleärer Veränderungen seien, ohne sich für diese Deutung zu entscheiden.

Demgegenüber macht Hückel geltend, daß zwar die Kerne der Epithelien an der Impfstelle aufquellen, daß aber nach seinen Beobachtungen weder eine Kernzertrümmerung noch eine Chromatolyse stattfindet.

B) Eigener Erklärungsversuch der Abstammung der Vaccinekörperchen.

Überblicken wir die verschiedenen Erklärungsversuche der erwähnten Autoren, so sehen wir, daß gegen alle Deutungen Einwände, oft sehr berechtigter Natur, gemacht werden können. Wir gewinnen so den Eindruck, daß zur Zeit eine stichhaltige Erklärung der Herkunft der Vaccinekörperchen eigentlich undurchführbar ist. Den Anhängern der Protozoentheorie freilich fällt die Erklärung der Zelleinschlüsse sehr bequem: sie kommen von außen. Wenn v. Wasielewski hervorhebt, daß die Auffassung der Körperchen als Degenerationsprodukte in ihren verschiedenen Formen unseren Kenntnissen von den pathologischen Veränderungen der Hornhaut nicht entspricht, so wird dies niemand in Abrede stellen; es kann diese Tatsache jedoch nicht zu Gunsten der Parasitennatur der Körperchen ins Treffen geführt werden, sondern vielmehr als Beweis, wie lückenhaft leider noch unsere Kenntnisse von der Zellpathologie, speziell von der Pathologie der Epithelzelle, sind. Unter diesen Verhältnissen dürfen wir als sicher gestellt nur das Ergebnis betrachten, daß die Vaccinekörperchen nach dem vorliegenden Tatsachenmaterial ausschließlich als Degenerationsprodukte angesprochen werden können. Es war uns möglich, diese Auffassung mit Beweisgründen zu belegen — jeder Erklärungsversuch der Herkunft dieser Zelldegenerationsformen aber muß eine Hypothese bleiben.

Immerhin erscheint es mir berechtigt, mit einigen Worten einen eigenen Erklärungsversuch der Abstammung der Vaccinekörperchen zu geben, den ich mir auf Grund meiner mikroskopischen Untersuchungen und der Ergebnisse der Literatur gebildet habe.

Halten wir uns an die vorläufig festgestellten Tatsachen, so können wir aussagen: Gemeinsam ist allen Vaccine-

körperchen die Zusammensetzung aus einer Masse, die in ihrem färberischen Verhalten wie Kernbestandteile reagiert. Solange diese Eigenschaft als eine Spezifität der chromatischen Elemente des Kerns zu gelten hat, und Protoplasmabestandteile bei keinen sonst bekannten Degenerationszuständen sich mit Kernfarben tingieren, solange heißt es unseren Kenntnissen Gewalt antun, die Körperchen in ihrem gesamten Aufbau vom Protoplasma abzuleiten. Wenn wir also geneigt sind, die Abstammung der cyanophilen Körperchen vom Zellkern als die nach dem heutigen Stand wahrscheinlichste anzusehen, so können wir zu Gunsten dieser Auffassung außer dem färberischen Verhalten weiterhin anführen: Eine beträchtliche Zahl der Körperchen zeigt eine so große Nachbarschaft mit dem Kern, daß man sich dem Eindruck nicht verschließen kann, daß es der Kern ist, von dem die Bildung der Körperchen ausgeht. Dazu kommt die seit Guarnieri bekannte und von mir ebenfalls häufig beobachtete Lagerung des Körperchens in einer Delle, ja tiefen Nische des Kernes. Bei solchen Bildern halte ich den Gedanken für den naheliegendsten, daß hier ein Stück des Kernes sich losgelöst und abgetrennt hat. Eine solche Deutung erklärt diese eigentümliche Lage des Körperchens am einfachsten, während die Nischenbildung des Kernes sonst die Aufstellung komplizierter Hypothesen verlangt. Daß der Kern von körperchenführenden Zellen auch sonst Zeichen einer Störung aufweist, ist sogar Hückel aufgefallen, der die Abstammung der Körperchen vom Zellkern leugnet: er beobachtete, daß die Zellteilung unter der Anwesenheit der Gebilde meist nicht richtig zu Ende geführt wurde; relativ häufig begegnete er losgetrennten Schleifenteilen, unter Umständen auch einem Wirrwarr von Chromatintropfen und Schleifenstückchen. Endlich sei hervorgehoben, daß nach den Erfahrungen meiner Untersuchungen in den Hautvaccinepusteln vom Kalb Kernveränderungen zu

beobachten sind, die auf tiefgreifende Läsionen des Kerns schließen lassen.

Ich möchte daher annehmen, daß das Virus der Vaccine eine spezifische Giftwirkung zunächst auf die Zellkerne ausübt. Unter diesem Einfluß lösen sich einzelne Teile des Kernes aus dem Verband mit dem übrigen Kern heraus und erscheinen vom Kern getrennt. Die übrigen Kernbestandteile können sich unter günstigen Umständen wieder zu einem normalen Kern restituieren. In anderen Fällen aber schreitet die Zerstörung des Kernes weiter, so daß schließlich ein völliger Zerfall der Kernelemente stattfindet. Die nackten Körperchen würden also allein dem Zellkern ihre Entstehung verdanken. Zur Erklärung der Mantelkörperchen dürfte man die Beteiligung des Zellprotoplasmas annehmen. Es würden bei dieser Vorstellung unter der Giftwirkung der Vaccine in zweiter Linie die Protoplasmabestandteile der Zelle leiden. Infolge dieser Wirkung würde sich um das Körperchen das Cytoplasma verdichten, während dieses sich gleichzeitig aus dem Zellleib heraushebt und so zur Bildung der zusammengesetzten Körperchen beiträgt.

Es sei ausdrücklich betont, daß diese Hypothese nicht den Wert einer einwandfreien Erklärung der Vaccinekörperchen abgeben kann und will; sie will nur für die Abstammung der rätselhaften Zelleinschlüsse von Bestandteilen der Zelle selbst plädieren. Die Vaccinekörperchen erscheinen danach in erster Linie als Abkömmlinge des Zellkerns, wobei in zweiter Linie das Protoplasma am Aufbau eines Teiles der Körperchen beteiligt ist.

Schlußfolgerungen.

Auf Grund der Darstellung der Literatur und der Ergebnisse meiner eigenen Untersuchungen möchte ich den derzeitigen Stand der Vaccinekörperchen-Frage folgendermaßen präzisieren:

1. Die in Lymphe, Blut und Organen Pockenkranker und Vaccinierter bisher als Erreger beschriebenen freien Körperchen sind keine körperfremden belebten Parasiten, sondern Gewebszellen beziehungsweise Degenerationsprodukte von Gewebszellen des erkrankten Organismus.

2. Den in den Epithelzellen der geimpften Haut und Hornhaut auftretenden Zelleinschlüssen kann nicht die Rolle eines Parasiten und Erregers zuerkannt werden. Es handelt sich vielmehr um Degenerationsprodukte, aber um Degenerationsprodukte, die eine **typische** Reaktion auf das Virus der Vaccine darstellen. Welcher Art diese Degeneration ist, muß eine offene Frage bleiben. Als wahrscheinlich

möchte ich bezeichnen, daß die cyanophile Masse des Vaccinekörperchens sich vom Zellkern ableitet, während das Zellprotoplasma sich am Aufbau der aus einem cyanophilen Zentrum und einer erythrophilen Randschicht zusammengesetzten Körperchen beteiligt.

An dieser Stelle sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheime Hofrat Professor Dr. Knauff, für die wertvolle Anregung und liebenswürdige Unterstützung bei vorliegender Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

Die mit * bezeichneten Veröffentlichungen waren dem Verfasser nicht im Original zugänglich.

1874. 1) Weigert, Anatomische Beiträge zur Lehre von den Pocken. Breslau, Max Cohn und Weigert, 1874.

1875. 2) Bohn, Handbuch der Vaccination. Leipzig, F. C. W. Vogel, 1875.

1886. 3) van der Loeff, *a) Weekblad van het Nederland. Tijdschr. voor Geneeskunde. 1886, Nr. 46.

1887. — — b) Über Proteiden in dem animalischen Impfstoffe. Monatsschrift für praktische Dermatologie, Bd. VI, Nr. 5.

— — c) Über Proteiden oder Amöben bei Variola vera. Ibid. Nr. 10.

4) Pfeiffer, L., a) Ein neuer Parasit der Pockenprozesse aus der Klasse Sporozoa-Leukart. Korrespondenzblätter des allg. ärztlichen Vereins von Thüringen. 1887, Nr. 2.

— — b) Monatshefte für praktische Dermatologie. Nr. 10 und 13.

— — c) Die bisherigen Versuche zur Reinzüchtung des Vaccine. Kontagiums. Zeitschrift für Hygiene. 1887. Bd. III, p. 214.

1888. — — d) Weitere Untersuchungen etc. Korrespondenzblätter des allg. ärztlichen Vereins von Thüringen. 1888. Nr. 11.

1891. — — e) Die Protozoen als Krankheitserreger. Jena, Gustav Fischer, 1891.

5) Schulz und Weyl, Zur Kenntnis der Lymphe. Zeitschrift für Hygiene. 1891. Bd. 10.

1892. 6) Doehle, Zur Ätiologie von Masern, Pocken, Scharlach, Syphilis. Zentralblatt für Bakt. 1892. Bd. XII, Nr. 25.

7) Buttersack, Über ein Gebilde, welches sich in Trockenpräparaten von Vaccine- und Variolalymphe sichtbar machen läßt. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. 1892.

8) *Guarnieri, Ricerche sulla patogenesi ed etiologia dell' infezione vaccinica e vaiolosa. Archivio per le scienze mediche. Torino e Palermo. 1892. Vol. XVI, Nr. 22.

1893. 9) *Clarke, Med. Press and Circ. 1893, Vol. II, p. 233.
10) *Ferroni e Massari, Sulla pretesa scoperta del Guarnieri riguardo la infezione vaccinica e vaiolosa. Riforma medica. Nr. 126.
11) *Monti, Sull'etiologia del vaiolo e sulle localizzazioni del virus vaioloso. Atti della Società medico-chirurgica di Pavia.
1894. 12) Pfeiffer, L., Behandlung und Prophylaxe der Blattern. Handbuch der speziellen Therapie innerer Krankheiten, herausgegeben von Penzoldt und Stintzing. Jena, Gustav Fischer, 1894.
13) *Guarnieri, Sui parassiti del vaiolo e del vaccino. Atti dell' XI Congresso medico internazionale. Roma, 1894. Vol. II, p. 125.
14) *Monti, Sull'etiologia del vaiolo e sulle localizzazioni del virus vailoso. Ibid. p. 128.
15) *Babes, Ibid. p. 134.
16) *Ruffer, Ibid. p. 134.
17) *Piana e Galli-Valerio, Sulla morfologia dei parassiti del vaiolo umano. Riforma medica. 1894. Nr. 126.
18) *Leoni, Sur les agents spécifiques et pathogènes de la vaccine. Revue d'hygiène et de police sanitaire. Paris, 1894. p. 692.
19) *Ruffer and Plimmer, Brit. med. Journ. 1894, Vol. I, p. 1412.
20) *Copeman, Researches on vaccinia. Brit. med. Journ. 1894. Vol. II, p. 157.
21) Clarke, *a) Brit. med. Journ. 1894, Vol. II, p. 869.
1895. — — b) A note on variola and vaccinia. Transactions of the pathological society of London. 1895. Vol. XLVI, p. 193.
— — c) The sporozoa of variola and vaccinia. Lancet, 1895. Vol. I, p. 139.
— — d) Einige Beobachtungen über die Morphologie der Sporozoen von Variola, sowie über die Pathologie der Syphilis. Zentralblatt für Bakt. 1895. Bd. 17, p. 300.
22) *Copeman, Vaccinia and Variola. Lancet, 1895. Vol. II, p. 370.
23) *Ferroni e Massari, Intorno ai supposititi parassiti dell' infezione vaccinica. Bolletino dell' Accademia Gioenia di Catania. 1895. Vol. XL.
24) Pfeiffer, Ernst, Über die Züchtung des Vaccineerregers in dem Corneaepithel des Kaninchens, Meerschweinchens und Kalbes, Zentralblatt für Bakt. 1895. Bd. 18, p. 769.
25) v. Sicherer, Beitrag zur Kenntnis des Variolaparasiten. München. med. Wochenschrift, 1895. p. 793.
26) Wassermann, Über Variola. Charité-Annalen, 1895. p. 565.

27) Buttersack, Weiteres über das von mir beschriebene Gebilde aus Vaccinelymphe. Berliner klin. Wochenschrift, 1895. p. 260.

28) Ogata, Über die Sporozoa (Gregarinen) der Vaccinelymphe und deren Bedeutung für die Krankheit. Mitteilungen der med. Fakultät der Kaiserl. japanischen Universität Tokio. Bd. III, Heft 2.

1896. 29) Pfeiffer, L., Die neueren, seit 1887 vorgenommenen Versuche zur Reinzüchtung des Vaccinekontagiums. Zeitschrift für Hygiene, 1896. Bd. 23, p. 306.

30) *Kourloff, Cytoryctes vaccinae Guarnieri. Arch. russes de Bact. Tome II.

31) *Vedelen, Vakcineprotozoen. Kristiania. Det Steenske Bogtrykkeri.

32) *Weber, Badania nat etyologia ospy. Medycyna, 1896. Nr. 14.

1897. 33) Unna, Ballonierende Degeneration der Stachelzellen. Biologische Abteilung des ärztlichen Vereins Hamburg. Offizielles Protokoll. München. med. Wochenschrift, 1897. p. 21.

34) v. Wasielewski, Über die Form und Färbbarkeit der Zelleinschlüsse bei Vaccineimpfungen (Cytoryctes vaccinae Guarnieri). Zentralblatt für Bakt. 1897. Bd. 21, p. 901.

35) *Guarnieri, Ulteriori ricerche sulla etiologia e sulla patogenesi della infezione vaccinica. Clinica Moderna. Anno III. Firenze, 1897.

36) *Salmon, Recherches sur l'infection dans le vaccine et la variole. Annal. de l'Inst. Pasteur. 1897. Tome XI. Nr. 4.

37) *Solovtzoff, Sur les microbes de la variole. Petersburg, 1897.

38) *Reed, Copuscules spéciaux dans le sang d'enfants vaccinés. Journ. of rep. méd. 1897.

1898. 39) Hückel, Die Vaccinekörperchen. Nach Untersuchungen an der geimpften Hornhaut des Kaninchens. Zieglers Beiträge zur path. Anat. 1898. II. Supplementheft.

40) *Bossalino, Intorno alle infezioni vacciniche della cornea. Archivio per le scienze mediche. Vol. XXII.

41) *London, Über die Körperchen von Guarnieri. Journ. der russischen Gesellschaft für öffentliche Gesundheitspflege. 1898.

42) *Musso, Recherches sur le parasite de la vaccine. Montpellier, 1898.

1900. 43) *Copeman and Mann, The Histology of Vaccination. Annual report of the medical Officer of the local Governement Board. 1898—1899. London, 1900.

44) Siegel, Weitere Untersuchungen über die Ätiologie der akuten Exantheme. Zentralblatt für Bakt. 1900. Bd. 28, p. 170.
45) Gorini, Über die bei der mit Vaccine ausgeführten Hornhautimpfung vorkommenden Zelleinschlüsse. Zentralblatt für Bakt. 1900. Bd. 28, p. 233.
46) *Roger et Weil, a) Société de Biologie. Sitzung vom 17. und 24. November 1900.
— — b) La presse médicale. 1900. Nr. 98.
47) Unna, Histologischer Atlas zur Pathologie der Haut. Heft 4. Hamburg und Leipzig, Leopold Voß, 1900.
1901. 48) v. Wasielewski, Beiträge zur Kenntnis des Vaccineerregers. Zeitschrift für Hygiene. 1901. Bd. 38, p. 212.
49) Gorini, Über die bei den Hornhautvaccineherden vorkommenden Zelleinschlüsse. Zentralblatt für Bakt. 1901. Bd. 29, p. 589.
50) *Calmette et Guérin, Recherches sur la vaccine expérimentale. Annal. Pasteur. 1901. Tome XV, p. 161.
51) Funck, Der Vaccine- und Variolaerreger. Zentralblatt für Bakt. 1901. Bd. 29, p. 921.
52) Podwyssoski und Mankowski, Zur Frage über den Vaccineerreger von Dr. Funck. Deutsche med. Wochenschrift. 1901. p. 261.
1902. 53) Dombrowski, Untersuchungen über das Kontagium der Pocken. Zeitschrift für klinische Medizin. 1902. Bd. 46, p. 1.
54) Gorini, Über die bei den Hornhautvaccineherden vorkommenden Zelleinschlüsse. Zentralblatt für Bakt. 1902. Bd. 32, p. 111.
55) *Ssikorsky, Über die Natur der Guarnierischen Körperchen. (Inaug.-Diss.) Petersburg, 1902.
56) Ishigami, Über die Kultur des Vaccine- resp. Variolaerregers. Zentralblatt für Bakt. 1902. Bd. 31, p. 794.
57) Poenaru, L'origine et l'identité du virus vaccin et virus variolique. Les corpuscules sphériques. Bukarest, 1902.
58) Tanaka, Über die Untersuchung des Pockenerregers. Zentralblatt für Bakt. 1902. Bd. 32, p. 726.
1903. 59) Bonhoff, Studien über den Vaccineerreger. Zentralblatt für Bakt. 1903. Bd. 34, p. 242 und 336.
60) *Foà, Anna, Studio sui Cytoryctes vaccinae. Rend. Accad. Lincei. Vol. XII, p. 64—71 und 88—93.
61) Pfeiffer (Hamburg), Referat der Arbeit von Ishigami. Hygienische Rundschau. 1903. p. 683.
62) *van der Loeff, «Pockenaalchen» oder «Fadenalgen» in Kuhpocken. Weekbl. van het Nederl. Tijdschr. v. Geneeskunde. 1903. I, Nr. 19.

63) *Thomson and Brownee, Preliminary note on the parasites of small-pox and chiken-pox. Brit. med. Journ. 1903. 31. Jan.

64) *Schamberg, A study of the contents of the vesicles and pustules of small-pox. Journ. of the Americ. med. assoc. 1903. 14. Febr.

65) *Borrel, Etude expérimentale de la clavelée. Filtration de virus; séro-clavelisation; séro-thérapie. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. p. 123.

66) *Casagrandi, Studii nel vaccino. Riforma medica. Anno XIX. 1903. Nr. 31.

67) Pfeiffer, L., Die modernen Immunitätslehren und die Vaccination. Zeitschrift für Hygiene. 1903. Bd. 43, p. 426.

68) Bosc, a) Le parasite de la vaccine et de la variole. Compt. rend. soc. de. biol. 1903. p. 1178 et 1204.

1904. — — b) Les maladies bryocytiques (Maladies à protozoaires). La Maladie vaccinale et son parasite (Plasmodium vaccinae). Zentralblatt für Bakt. 1904. Bd. 36, Nr. 4, 5; Bd. 37, Nr. 1, 2.

69) *Councilman, Magrath, Brinckerhoff, A preliminary communication on the etiology of variola. Journ. of medical research. 1904. Vol. IX, p. 372—375.

70) *de Korté, Die Parasiten der Variola, Varicellen und der Vaccine. Lancet, 24. Dez. 1904.

71) Paschen, Zur Frage der Vaccinekörperchen bei der Revaccination. Biologische Abteilung des ärztlichen Vereins Hamburg. Sitzung vom 5. März 1904. Offizielles Protokoll. München. med. Wochenschr., 1904. p. 1035.

72) Voigt, Über Vaccination von Kaninchen. Biologische Abteilung des ärztlichen Vereins Hamburg. Sitzung vom 29. März 1904. Offizielles Protokoll. München. med. Wochenschrift, 1904. p. 1130.

73) Siegel, Beiträge zur Kenntnis des Vaccineerregers. Sitzungsberichte der Königl. Preuß. Akad. d. Wiss. Sitzung der phys.-math. Klasse vom 9. Juni 1904.

1905. 74) Siegel, Untersuchungen über die Ätiologie der Pocken und der Maul- und Klauenseuche. Aus dem Anhang zu den Abhandlungen der Königl. Preuß. Akad. d. Wiss. vom Jahre 1905. Berlin, 1905.

Lebenslauf.

Ich, Karl Süpfle, wurde am 9. Dezember 1880 in Metz geboren, als jüngster Sohn des dortigen Oberlehrers am Lyceum, Professor Dr. Theodor Süpfle. Mit der Übersiedlung meiner Eltern kam ich 1886 nach Heidelberg. Nachdem ich drei Jahre die Volksschule besucht hatte, trat ich im Herbst 1890 in die Sexta des Gymnasiums Heidelberg ein. Juli 1899 verließ ich diese Anstalt mit dem Zeugnis der Reife. Oktober 1899 wurde ich an der Universität Heidelberg immatrikuliert und widmete mich hier dem Studium der Medizin. Juli 1901 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab und bestand am 9. Juli 1904 die ärztliche Prüfung. Am 1. August desselben Jahres wurde mir die Approbation als Arzt erteilt. Ich trat sodann als Volontärassistent in das hygienische Institut der Universität Heidelberg ein, in welchem ich seit 1. Mai 1905 als Assistent tätig bin.